

THESIS

MÜNCHEN

1964

**Die Wirkung der Dicarbonsäuren
auf die Fettstoffwechselvorgänge
im tierischen Organismus.**

In-vivo-Versuche unter Beigabe von C¹⁴-Acetat.

Rosemarie Eichhorn

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN.

Direktor: Prof. Dr. med. W. Seitz

**Die Wirkung der Dicarbonsäuren auf die
Fettstoffwechselvorgänge im tierischen Organismus.**

In-vivo-Versuche unter Beigabe von C¹⁴-Acetat.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfaßt
und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Rosemarie Eichhorn

aus Coburg

München 1964

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Seitz

Dekan: Prof. Dr. R. Bachmann

Tag der mündlichen Prüfung: 17. 3. 1964

Einleitung

Die Fette dienen dem Organismus vorwiegend als Energiespeicher und stellen infolge ihrer weiten Verbreitung im Tier- und Pflanzenreich einen wichtigen Bestandteil der Nahrung dar. Dazu sind sie durch ihre geringe Löslichkeit im wässrigen Medium und ihre hohe Verbrennungswärme in besonderem Maße geeignet. Die Hauptdepots der Fette im Körper liegen subkutan und intramuskulär, im Omentum und im Verband mit Hohlorganen, wie z.B. Herz und Niere. Sie bieten in dieser Form eine gute Isolation gegen Wärmeverluste und einen gewissen Schutz gegen mechanische Einwirkungen. In manchen Geweben werden sie auch als Strukturelement herangezogen, wie z.B. bei der Druckkonstruktion der Fußsohle. Beim Bau der Zellmembran spielen die Fette eine wesentliche Rolle.

Bei den Fetten handelt es sich um eine chemisch ziemlich heterogene Gruppe von Substanzen, denen die Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln wie Äther und Chloroform und die Unlöslichkeit in Wasser gemeinsam ist. Nach ihrer Struktur werden sie eingeteilt in Neutralfette, Phosphatide, Isopren-Lipide, Cerebroside, Carotinoide und Wachse.

Unter den Fetten im engeren Sinne versteht man die Neutralfette oder Triglyceride, die Ester des Glycerins mit Fettsäuren darstellen. Neben den Triglyceriden kommen im Organismus in geringerer Menge stets auch Di- und Monoglyceride vor. Die Fettsäuren sind in ihrer Zusammensetzung teilweise von der Ernährung abhängig. Sie bestehen demnach aus gesättigten und ungesättigten Fettsäuren, der Anteil der gesättigten ist wesentlich höher. Die wichtigsten beim Warmblütler vorkommenden Fettsäuren sind die Palmitinsäure mit 16 C-Atomen und die Stearinsäure mit 18 C-Atomen.

Die Phospholipide enthalten als Bausteine die Alkoholkomponente Glycerin oder Sphingosin, eine Fettsäure, eine Phosphatgruppe und eine

stickstoffhaltige Base (Cholin, Colamin, Serin.). Nach ihrer Alkoholkomponente teilt man sie ein in Glycerinphosphatide, Acetalphosphatide und Sphingosinphosphatide. In der Leber kommen hauptsächlich die Glycerinphosphatide vor. Die Fettsäuren der Phospholipoide unterscheiden sich in zweifacher Hinsicht von denen der Neutralfette: Einmal durch höhere C-Atomzahl (Ketten bis 22 C-Atome) und dann durch einen höheren Gehalt an Doppelbindungen.

Die Isopren-Lipide sind Steranderivate, zu ihnen gehört das Cholesterin, das in freier Form und als Fettsäureester in der Leber vorkommt. Von ihnen leiten sich ferner eine Reihe wichtiger Wirkstoffe ab: Verschiedene Sexualhormone, die Nebennierenrindenhormone, die Provitamine D und die Digitaliswirkstoffe.

Die Cerebroside kommen vor allem im Nervengewebe vor und interessieren hier wegen ihres geringen Gehalts in der Leber ebenso wenig wie die Carotinoide und Wachse.

Die in den tierischen Organismus aufgenommenen Fette werden im Darm durch die Darm- und Pankreaslipasen hydrolysiert, nachdem sie zuvor durch Gallensäuren emulgiert worden sind. Die Resorption erfolgt auf zwei Wegen:

Die wasserlöslichen Substanzen Glycerin und Fettsäuren bis zur Myristinsäure (C^{14}) werden von der Blutbahn über das Pfortadersystem aufgenommen (1). Die wasserunlöslichen Bestandteile gelangen über das Lymphgefäßsystem des Ductus thoracicus in den Blutstrom. Die Resorption aus dem Darmlumen erfolgt durch ein emulgierendes System, das gebildet wird von Monoglyceriden und Diglyceriden, von gallensauren Salzen und Seifen (2). In dem Epithel der Darmwand kommt es zu einer teilweisen Umesterung und Neubildung von Fetten. Im Blut werden die Fette in Bindung an die Globuline transportiert und passieren zum größten Teil die Leber. Bergström und andere (3) fanden bei Untersuchungen mit markierten Fettsäuren, daß nahezu das gesamte Fett in die Leber gelangt, bevor es in die Depotfette eingebaut wird. Dabei

The logo of the Internet Archive, featuring a stylized classical building with four columns and a triangular pediment, rendered in a light gray color.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154022_0052

werden in der Leber vor allem die Phospholipoide synthetisiert, so daß sich das Verhältnis der Neutralfette zu den Phospholipoiden zugunsten letzterer verschiebt, nach Angaben obiger Autoren maximal eine Stunde nach Applikation. Diese Feststellung entspricht der Tatsache, daß die Phospholipoide die Transportform der Fette darstellen.

In dieser Form gelangen die Fette in die einzelnen Organe, wo sie teils gespeichert, teils abgebaut werden. Der Abbau erfolgt nicht in Form der Ester, sondern die Fette werden vor der Oxydation in Glycerin und freie Fettsäuren gespalten. Das Glycerin geht in Bindung an Phosphat in den Kohlenhydrat-Stoffwechsel ein. Die Fettsäuren werden, bevor sie oxidiert werden, durch das Coenzym A in eine energiereiche Verbindung überführt; zu dieser Reaktion ist ATP nötig, das in ADP und Pyrophosphat übergeht.

Die Reaktionsfolge, in der die so aktivierten Fettsäuren der Oxydation unterliegen, bezeichnet man als "Fettsäure-Cyclus" oder besser Fettsäurespirale, da das Ausgangsmaterial nach einem Umlauf nicht als solches regeneriert wird, sondern zu schrittweisen Abspaltung von Essigsäureäquivalenten führt, und um zwei C-Atome verkürzt wiedererscheint. Der Mechanismus geht, schematisch betrachtet, in vier Abschnitten vor sich: zunächst wird die Fettsäure dehydriert. In einem zweiten Schritt wird an die α , β - ungesättigte Fettsäure Wasser abgelagert; es entsteht eine β -Hydroxysäure. Die so entstandene sekundäre Alkoholgruppe wird zur Ketogruppe dehydriert. Der letzte Schritt besteht in der sogenannten thioklastischen Spaltung der Kohlenstoffkette durch das Co-Enzym A.

Hierbei wird ein Molekül Acetyl-Co A frei und am verkürzten Acyl - Co A wiederholt sich nun die gleiche Reihe von Reaktionen, bis die Fettsäurekette zu einem aus weniger als vier Kohlenstoffatomen bestehenden Fragment abgebaut ist. Im Falle geradzahliger Ketten ist das Endprodukt Acetyl - Co A, bei ungeradzahligen Ketten Propionyl - Co A. Dieses kann durch Anlagerung von CO_2 in Bernsteinsäure umgewandelt und in dieser Form dem Organismus nutzbar gemacht werden, da es als Propionsäure nicht weiter abgebaut werden kann. (4).

Neben diesem als β -Oxydation bezeichneten Abbauweg der Fettsäuren gibt es noch einen zweiten Mechanismus, der zum Abbau der Fettsäuren führt: die ω -Oxydation. Sie tritt ein, wenn die Carboxylgruppe vor dem Angriff des Enzyms geschützt ist, z.B. durch Veresterung oder Säureamidbildung. In diesem Fall wird die endständige Methylgruppe oxydiert und es wird eine freie Carboxylgruppe geschaffen, die dann durch β -Oxydation weiter abgebaut werden kann. In geringem Umfang tritt die ω -Oxydation auch bei mittelkettigen Fettsäuren mit 8 - 10 C-Atomen ein, ohne daß die Carboxylgruppe blockiert sein muß. Da die Säuren dieser Kettenlänge in der Nahrung wenig vorkommen, spielt diese Reaktion im menschlichen Organismus eine geringe Rolle. (5).

Da alle biologischen Vorgänge als Gleichgewichtsreaktionen angesehen werden können, verläuft die Synthese der Fettsäuren über weite Strecken als Umkehrung des Abbaus, wenn das Stoffwechselgleichgewicht zugunsten der Synthese liegt.

Wesentlich weicht nur der erste Schritt von diesem Schema ab: Bei der Kondensation von zwei Molekülen Acetyl-Co A zu Acetyl-Co A tritt als Zwischenprodukt Malonyl-Co A auf; dieses entsteht durch Anlagerung von CO_2 an Acetyl-Co A unter Mitwirkung von ATP und einem biotinhaltigen Enzym. Die dabei entstehende aktive CH_2 -Gruppe reagiert leicht mit Acyl-Co A. Diese Verbindung ist unbeständig und spaltet spontan CO_2 ab: es entsteht die β -Ketosäure. Weiter unterscheidet sich der Aufbau der Fettsäuren vom Abbau durch die Art der Enzyme, die bei der Synthese als Co-Fermente durchwegs Triphosphopyridinnukleotide enthalten.

Die Synthese der Neutralfette und Phospholipoide verläuft in den ersten Reaktionsstufen parallel: Das aus dem Kohlenhydratstoffwechsel stammende Dihydroxyacetonphosphat verbindet sich mit zwei Mol aktivierter Fettsäure zu Diglyceridphosphat. Dieses wird dephosphoryliert und geht als freies Diglycerid die weiteren Reaktionen ein. Im Falle der Neutralfette verbindet es sich mit einem weiteren Mol Acyl-CoA, im Falle der Phospholipoide mit Cytidinphosphat-Cholin oder -Colamin, das unter Mitwirkung

von ATP aus Cytidintriphosphat und der betreffenden N-haltigen Base entsteht. (6).

Die Synthese der anderen Fette interessiert in diesem Zusammenhang nicht.

Das wichtigste Organ im Fettstoffwechsel ist die Leber. Dies ergibt sich schon allein dadurch, daß nahezu das gesamte aus dem Darm resorbierte Fett, teils über das Pfortadersystem, teils über das Lymphsystem in die Leber gelangt (7). Entsprechend ist der Reichtum der Leber an Enzymen, die mit dem Lipoidstoffwechsel zu tun haben, groß, was den raschen Umbau der Fette in der Leber erklärt. Die biologischen Halbwertszeiten für Leberfett betragen bei der Ratte ein bis zwei Tage, für Depotfette das 10-fache.

P r o b l e m s t e l l u n g .

In umfassenden Arbeiten wurden in dem Isotopenlabor der Poliklinik bereits ausführliche Untersuchungen an Tauben über Stoffwechselwirkungen der Monocarbonsäuren durchgeführt.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte nun festgestellt werden, in welchem Ausmaß oral in verschiedenen Konzentrationen zugeführte Dicarbonsäuren, speziell die Malonsäure, Glutarsäure und Azelainsäure, die normale Stoffwechsellage bei Tauben beeinflussen können.

Folgende Fragen standen in diesem Zusammenhang zur Diskussion:

- 1.) Auf welchem Weg Dicarbonsäuren in den energiegewinnenden Momentanstoffwechsel, d.h. den Zitronensäurecyclus, merkbar eingreifen können,
- 2.) ob die Dicarbonsäuren hemmend oder fördernd auf die Fettsynthese wirken,
- 3.) welche Konzentrationen der verfütterten Dicarbonsäuren im Bereich der physiologischen Wirkungsbreite liegen.

D i c a r b o n s ä u r e n .

Zur näheren Erläuterung der später in der Arbeit vorkommenden Zusammenhänge mit den Dicarbonsäuren soll im folgenden eine kurze Übersicht gegeben werden auf die bereits bekannte Funktion der Säuren.

Die Dicarbonsäuren spielen im allgemeinen in der Nahrung keine wesentliche Rolle, vermehrt kommen sie nur in verschiedenen Fruchtarten, besonders in unreifen Früchten und in einigen Ölar ten vor.

Chemisch sind es gut kristallisierbare Substanzen; die Löslichkeit in Wasser ist gering. Die Dissoziation erfolgt in 2 Stufen, der Säuregrad sinkt mit steigendem Atomgewicht, dabei sind aber die Dicarbonsäuren stärkere Säuren als die homologen Fettsäuren. Innerhalb der homologen Reihe lassen sich in den physikalischen und chemischen Eigenschaften charakteristische Unterschiede feststellen.

Die biologische Bedeutung der Dicarbonsäuren ist nur zum Teil bekannt. Nur bei den physiologisch vorkommenden Dicarbonsäuren mit niedriger C-Atomzahl wurden einige Stoffwechselwirkungen genauer untersucht.

Im Allgemeinen werden Dicarbonsäuren, auch wenn sie in vermehrtem Maße angeboten werden, nicht im Organismus gespeichert, ihre toxische Wirkung ist daher sehr gering. Fütterungsversuche an Ratten mit 40 mg/die über 33 Wochen mit Dicarbonsäuren wurden ohne nachweisbare Schäden vertragen. (7). Verfolgte man die Ausscheidung der Säuren im Harn, so kam man zu folgenden Ergebnissen:.

- 1.) Von der Oxalsäure abgesehen, die hier eine Sonderstellung einnimmt, fand sich bis Glutarsäure (C 5) so gut wie keine Ausscheidung im Urin.
- 2.) Bei Gaben von mittelkettigen zweibasigen Fettsäuren (C6 - C 11) erfolgte ein starker Anstieg der Diacidurie, die allerdings innerhalb dieser Reihe mit steigender C-Atomzahl zurückging.
- 3.) Die hochkettigen (ab C 12) Dicarbonsäuren waren im Urin so gut wie nicht nachweisbar.

Daraus lässt sich ersehen, daß die Verwertbarkeit der niederkettigen Dicarbonsäuren im tierischen Organismus sehr gut ist. Die mittelkettigen Säuren hingegen werden nur zu einem kleinen Teil abgebaut. Die höherkettigen Dicarbonsäuren wiederum sind dem Stoffwechsel in vermehrtem Umfang zugänglich.

Die Frage, in welchem Umfang Dicarbonsäuren im tierischen Organismus gebildet werden, ist durch Untersuchungen von Bernhard, Flaschen-träger u.a. (8,9) weitgehend geklärt. Während Verkade und Mitarbeiter (10) die Dicarbonsäuren noch für ein obligates Zwischenprodukt beim Abbau der Fettsäuren hielten, dergestalt, daß prinzipiell alle Fettsäuren der ω -Oxydation unterliegen, um anschließend bilateral β -oxydiert zu werden, kamen die oben genannten Autoren zur Anschauung, daß der Hauptweg beim Abbau der Fettsäuren über die β -Oxydation führt, die ω -Oxydation dagegen nur einen Nebenweg darstellt. Die Menge der dabei entstehenden Dicarbonsäuren ist unter normalen Bedingungen gering.

M e t h o d i k .

Nach der Versuchsanordnung sollte sowohl die Carbonatausscheidung von Tauben in der Ausatemungsluft als auch der Gehalt der Fette in der Leber dieser Tiere bestimmt werden.

Dazu wurden kräftige und soweit erkennbar gesunde Tauben verwendet, sechs Tage vor Versuchsbeginn in Einzelkäfige gesetzt und reichlich mit Weizen gefüttert. Die kohlehydratreiche Nahrung erwies sich erfahrungsgemäß als notwendig, um eine optimale Aktivität der an der Lipogenese beteiligten Enzymsysteme in der Leber zu erreichen.

In Kurzversuchen erhielten die Tiere die zu prüfenden Dicarbonsäuren 3 mal in 12 stündigem Abstand. Die erste Fütterung erfolgte morgens, die zweite am gleichen Tag abends und die dritte eine Stunde vor Versuchsbeginn. Die Säuren wurden in kristallisierter Form in Oblaten abgepackt und mit reichlich Wasser in den Kropf der Taube eingebracht.

Der in dieser Weise vorgefütterten Taube wird am Versuchstag 1 ccm einer 1-C^{14} -Acetatlösung (ca. 300 000 Impulse/min) mit etwa der gleichen Menge Wasser in den Kropf instilliert. Unmittelbar darauf wird die Taube in einen genügend großen Stoffwechselkäfig gesetzt. Mit Hilfe einer angeschlossenen Wasserstrahlpumpe wird ein kontinuierlicher Luftdurchfluß erreicht. Die angesaugte Frischluft wird durch eine vorgeschaltete Waschflasche mit hochprozentiger Natronlauge weitgehend von CO_2 befreit. Das von der Taube ausgeatmete Carbonat wird in zwei mit 28%-iger Natronlauge gefüllte Gefäße geführt. Eine quantitative Absorption des Carbonats ist durch Absorptionsfritten gewährleistet.

Das ausgeatmete CO_2 wird nun in bestimmten zeitlichen Abständen aufgefangen und zwar nach 15, 30, 60, 90, 120 und 150 Minuten vom Beginn des Versuches an gerechnet. Die ersten 5 Minuten dienen als Anlaufzeit. Das so aufgefangene CO_2 wird in den einzelnen Fraktionen als Barium-Carbonat niedergeschlagen: zu dem in der Natronlauge gelösten CO_2 werden 10 ccm einer 25%-igen NH_4Cl -Lösung gegeben und das

ganze zum Sieden gebracht. Unter Umrühren wird tropfenweise heißes 28%-iges BaCl_2 zugegeben. Das CO_2 fällt als BaCO_3 aus. Das ausgefällte Barium-Carbonat wird in Filtertiegeln aufgefangen und im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz (105° Cel.) erhitzt. Dann wird das Gewicht der einzelnen Fraktion ermittelt.

Zur Bestimmung der Aktivität wird ein Teil des Carbonats im Mörser mit Zaponlack (1% in absolutem Alkohol) verrieben. Von dieser Aufschwemmung wird eine möglichst dünne Schicht auf Metallplättchen ($\varnothing 2,81 \text{ cm}$) von bekanntem Gewicht gleichmässig gebracht. Von jeder der in den Zeitabständen ausgeschiedenen Portionen werden zur Kontrolle zwei Plättchen gegossen. Die Plättchen werden getrocknet, gewogen und die Belegung mit BaCO_3 in mg/cm^2 errechnet. Um die Selbstabsorption so niedrig wie möglich zu halten, wurde bei der Belegung ein Wert von 5 mg nicht überschritten.

Die Messung im Geigerzähler (Geigerzählgerät FH 49 Friesseke und Hoepfner Erlangen-Bruck und das Glimmer-Fenster-Zählrohr dünner Belegung a $1,0 \text{ mg/cm}^2$) ergibt die Aktivität des BaCO_3 , das auf das Plättchen aufgetragen wurde. Die Errechnung der Gesamtaktivität erfolgt unter Berücksichtigung der Selbstabsorption nach den Richtlinien, die in "Isotopic Carbon" (11) angegeben sind. Hierauf wird auf das in den einzelnen Zeitabschnitten ausgeschiedene gesamte aktive BaCO_3 umgerechnet.

Nachdem sich die Taube 150 Minuten im Stoffwechselkäfig befunden hat, wird der Atmungsversuch abgebrochen. Das Tier wird sofort mit Scherenschlag dekaptiert und die Leber entnommen. Pathologische Lebern werden nach dem makroskopischen Befund ausgeschlossen. Die Leber wird in Eiswasser gewaschen, von Gallenblase und Bindegewebe freipräpariert und auf dem Filtrierpapier getrocknet. Dann wird die Leber gewogen und mit der gleichen Gewichtsmenge Aqua bidestillata versetzt. Bei 12 000 Touren/min. wird 2 Minuten lang im elektrischen Homogenisator homogenisiert. 10 g des Homogenats, die also 5 g Leber enthalten, werden in einem Rundkolben von 1 l eingewogen und langsam unter Schwenken 500 ccm Bloor'sche Lösung (1 Teil Aether und 3 Teile

6%-iger Alkohol) zugegeben.

Die Extraktion erfolgt in zwei Abschnitten. Das mit der Bloor'schen Lösung versetzte Leberhomogenat wird bei 70°C im Wasserbad 1 Stunde lang am Rückflußkühler gekocht. Der Überstand wird durch ein Filter abdekantiert. Zum Rückstand werden 200 ccm Chloroform und 40 ccm Methanol gegeben. Diese Lösung wird für eine weitere halbe Stunde bei 70°C am Rückflußkühler zum Sieden gebracht und so die Fette völlig extrahiert. Diese Lösung wird durch das schon vorher benützte Filter gegossen und der Rückstand dann nochmals mit Chloroform nachgewaschen. Das so erhaltene Filtrat, das die Gesamtfette der Leber enthält, wird nun im Wasserbad bei 50°C durch Vacuumdestillation eingedampft. Um letzte Wasserreste zu beseitigen, werden noch 20 ccm 90%-igen Alkohols zugegeben und ebenfalls bis zur Trockene abdestilliert.

Die im Glaskolben verbliebenen Gesamtfette werden mit Petroläther gelöst u. durch ein Filter auf 25 ml aufgefüllt. 4 ml dieser Lösung werden in ein Wägeschälchen von bekanntem Gewicht einpipettiert, im Trockenschrank bei 105°C eingedampft, gewogen und aus der Differenz das Gewicht der Gesamtfette pro 5 g Leber errechnet.

Die Messung der Aktivität erfolgt, indem jeweils 1 ml der Gesamtfettlösung auf ein Aluminiumplättchen ($\varnothing$ 30 mm, Randhöhe 3 mm) belegt mit Lenspaper ("Josta-Klar" mit Silikonöl der Firma Josta GmbH München) aufgetragen wird, so daß sich nach Verdunsten des Petroläthers eine gleichmäßige Fettschicht bildet. Die Messung der Aktivität erfolgt im Methandurchflußzähler (Methandurchflußzähler FH 5 2 - Zählrohr Frieseke und Hoepfner Erlangen-Bruck; Messung bei 3,8 kV, Diskriminatorstellung 10, Blasen Zahl 120/min.) nach der Methode der "direkten Messung" nach Entenmann u.a. (12). Zur Standardmessung diente ein α, β -Uranstrahler. Die Umrechnung der Werte, die man bei der Messung der Fette erhält, erfolgt auf 9 000 Imp./min. dieser Standardfolie.

Von der verbliebenen Menge der Gesamtfette werden zur Auftrennung

in eine acetonlösliche und acetonunlösliche Fraktion 16 ml weiterverarbeitet.

Diese 16 ml werden bis fast zur Trockene eingedampft, mit Aceton aufgefüllt, mit einem Glasstab verrieben und über 24 Stunden im Kühlschrank zur quantitativen Fällung der acetonunlöslichen Anteile aufbewahrt. Danach wird das überstehende Aceton mit den darin gelösten Fetten abpipettiert, in ein Becherglas abgefiltert und bis zur Trockene eingedampft. Dieser Rückstand sowie die in Aceton unlöslichen Fette werden mit Petroläther gelöst und auf 10 ml aufgefüllt.

Von diesen beiden Lösungen werden wie oben die Radioaktivität und das Gewicht bestimmt, wobei wieder wie oben auf ein Lebergewicht von 5 g umzurechnen ist.

Le e r v e r s u c h .

Die Durchführung der Kontrollversuche erfolgte nicht hintereinander, sondern in bestimmten Zeitabständen. Dadurch wurden Einflüsse, die durch Zucht, jahreszeitliche Schwankungen und unterschiedliche Fütterungen bedingt sein können, ausgeschlossen. Abweichungen vom Mittelwert liegen im Bereich der biologischen und methodischen Schwankungsbreite.

Die Tauben bekamen in derartigen Versuchen keine Dicarbonsäuren, sondern erhielten nur das C^{14} -Acetat in gleicher Menge wie die übrigen Versuchstiere. Damit war es möglich, eine Vorstellung von der normalen Stoffwechsellage der Tiere zu gewinnen.

Bei der Auftrennung in acetonlösliche und acetonunlösliche Fraktion, also im Wesentlichen in Neutralfette und Phospholipoide, fällt auf, daß das Verhältnis bei der Aktivität mit 1 : 0,92 auf Seiten der Neutralfette liegt, während es bei der Gewichtsbestimmung mit 1 : 1,87 umgekehrt ist. Eine Erklärung hierfür läßt sich vielleicht in der Tatsache finden, daß die Phospholipoide weit mehr ungesättigte Fettsäuren enthalten als die Neutralfette, wie Bruce an Taubenlebern nachweisen konnte (33). Die aus markiertem Acetat synthetisierten Fettsäuren werden also zum überwiegenden Teil in die Neutralfette eingebaut, während der Einbau von markiertem Acetat in ungesättigte Fettsäuren nur durch Verlängerung der Fettsäurekette erfolgen kann. Da dieser Vorgang natürlich begrenzt ist, liegt die Aktivität der Phospholipoide entsprechend niedriger (34).

Le e r v e r s u c h

Bestimmung von Aktivität, Gewicht und spez. Aktivität der Gesamtfette und ihrer Auftrennung in Neutralfette und Phospholipoide.

Vers. Nr.	Gesamtfette		Neutralfette (N)		Phospholipoide (P)		N : P	Lebergew. (g)
	A	G (mg)	spz. A.	A	G	A	A	G
9	8,4 0	-	-	4,5 7	-	3,5 9	1:0,79	-
39	7,7 5	202,8	382	2,7 0	61,1	3,6 0	1:1,33	1:1,80
49	7,9 3	183,8	432	3,8 2	51,5	3,5 4	1:0,93	1:1,98
56	7,3 0	240	304	4,3 3	103	2,9 6	1:0,68	1:1,33
61	10,6 0	245	433	3,9 6	75,5	4,0 5	1:1,02	1:2,24
62	8,1 3	258	316	3,8 4	73	3,5 0	1:0,91	1:1,91
Mittel- wert	8,35	223	373	3,8 8	74,8	3,5 5	1:0,92	1:1,87

Erläuterung: A: Aktivität
 G: Gewicht (mg) gemessen in Imp. x 10⁴/min.
 N: Neutralfette
 P: Phospholipoide
 spz. A: spezifische Aktivität (Aktivität/Gewicht) gemessen in Imp.

Malonsäure

Die Malonsäure unterscheidet sich schon durch ihre physikalischen Eigenschaften von den höheren Dicarbonsäuren. Ihre Dissoziationskonstante liegt um ein Vielfaches über der der nächst höheren Dicarbonsäure, der Bernsteinsäure, und ihre Löslichkeit in Wasser ist weit besser. Mit drei C-Atomen kann sie schon rein formal betrachtet nicht den üblichen Abbaumechanismen, wie z. B. der Dehydrierung, unterliegen.

Auch in der Nahrung spielt die Malonsäure eine gewisse Rolle. Sie kommt, wenn auch in kleineren Mengen, vor allem in Rüben und unreifen Früchten vor. In Spuren findet sich die Malonsäure regelmässig im Harn. Die quantitative Ausscheidung ist nach Versuchen an Hunden unabhängig von der Nahrung. (14). Die ursprüngliche Annahme, daß die Malonsäure ein Abbauprodukt der ungesättigten Fettsäuren darstelle, wurde damit widerlegt; denn selbst bei Verfütterung unphysiologisch hoher Mengen Leinöl, das reich an ungesättigten Fettsäuren ist, fand sich keine vermehrte Ausscheidung von Malonsäure im Harn (16). Daß Beziehungen zum Fettstoffwechsel bestehen, konnten Tietz und Popjak (15) bei Fütterungsversuchen mit Malonat nachweisen. Sie fanden einen stimulierenden Einfluß auf den Einbau von Acetat in die Fettsäuren, der bei ähnlichen Versuchen von Abraham u. a. (17) 40 bis 50 % betrug. Die Erklärung für die Förderung der Fettsynthese durch Malonsäure dürfte in der kürzlich gemachten Entdeckung liegen, daß die Malonsäure in ihrer aktiven Form - als Malonyl-Co A - als Zwischenprodukt bei der Kondensation von zwei Mol Acetyl-Co A zur aktivierten Acetessigsäure auftritt, wie oben bereits ausführlich geschildert.

Eine weitere wichtige Stoffwechselfunktion der Malonsäure ist schon länger bekannt: die kompetitive Hemmung der Bernsteinsäure durch die Malonsäure am Enzym der Succinodehydrogenase. Dadurch, daß Malonsäure, die ja nicht dehydriert werden kann, anstelle der Bernsteinsäure an das Enzym gebunden wird, die Bernsteinsäure sozusagen von ihrem angestammten Platz am Enzym verdrängt, kommt es an dieser Stelle zu einem Stop im Zitronensäurecyclus und damit zu einer Hemmung der

Verbrennungsvorgänge im Organismus. Damit läßt sich wohl auch die toxische Wirkung der Malonsäure bei Verfütterung von größeren Mengen, die S. Forsmann (18) bei Versuchen mit Ratten in verschiedenen Organen fand, erklären.

In einem gewissen Gegensatz dazu stehen die Angaben von Litson und Stolen (19), die Malonsäure mit C^{13} als Carboxyl- C injizierten. Dabei wurde innerhalb von 6 Stunden 20 - 32 % des isotopen-C als CO_2 durch die Lunge ausgeschieden. Es liegt nahe, daß dieses C von der Decarboxylierung des Malonyl-CoA, das bei der Fettsäuresynthese als Zwischenprodukt auftritt, stammt.

Eigene Ergebnisse.

Bei den Gesamtfetten ergibt sich gewichtsmäßig durchwegs eine Förderung gegenüber den Kontrollversuchen. Sie erreicht bei 60 mg Fütterungsmenge bereits mit 27 % ihr Maximum und hält sich bei höheren Fütterungskonzentrationen etwa auf dem gleichen Niveau. Umgekehrt fällt die Kurve der spezifischen Aktivität schon bei 60 mg auf 42 % unter den Leerwert ab, um bei höheren Konzentrationen nur mehr gering anzusteigen.

Bei der Auftrennung der Fette in Neutralfette und Phosphatide zeigt sich ein entsprechender Kurvenverlauf. Bei der kleinsten Fütterungsmenge von 60 mg liegt die Gewichtskurve bei beiden Fraktionen deutlich über dem Nullwert. Während sie bei den Neutralfetten bei höheren Konzentrationen einen Abfall bis maximal - 22 % unter den Nullwert zeigt, sinkt sie bei den Phospholipoiden nur gering ab. Bei der Bestimmung der Aktivität liegt die Kurve der Neutralfette durchwegs deutlich unter dem Nullwert, die der Phospholipoiden dagegen zeigt ab 60 mg Fütterungsmenge eine Förderung gegenüber den Leerversuchen.

Die Gesamt- CO_2 -Ausscheidung liegt gewichtsmäßig nur bei der kleinsten Konzentration annähernd auf der Höhe des Leerwertes. Mit steigender Fütterungsmenge wird dagegen stetig weniger CO_2 abgeatmet. Entsprechend verläuft die $C^{14}O_2$ -Ausscheidung.

Hier nimmt der C^{14} -Gehalt mit steigenden Fütterungskonzentrationen ab, liegt aber erst bei 250 mg unter dem Wert des Leerversuches. Bei der Kurve des zeitlichen Verlaufes der C^{14} -Ausscheidung zeigen sich keine deutlichen Unterschiede zum Kontrollversuch, es fällt lediglich eine verzögerte Abnahme des C^{14} -Gehaltes in der letzten Stunde auf.

Vergleichen wir die Ergebnisse der Fettaufarbeitung und der CO_2 -Bestimmung in der Ausatemungsluft, so läßt sich vielleicht folgende Deutung geben: Die Malonsäure hat eine hemmende Wirkung auf die Verbrennungsvorgänge im tierischen Organismus. Ihr Angriffspunkt ist dabei wahrscheinlich, wie oben angeführt, in einer kompetitiven Hemmung der Succinodehydrogenase und damit in einer Blockierung des Zitronensäurecyclus zu suchen. Dieser Hemmungsmechanismus tritt in unserer Versuchsanordnung allerdings erst bei Verfütterung größerer Mengen auf.

- Während also bei den Verbrennungsvorgängen eine hemmende Wirkung der Malonsäure festzustellen ist, ist eine Förderung der Fettfraktion zu beobachten. Die Ursache dürfte in der bereits oben dargelegten spezifischen Förderung der Fettsäuresynthese aus Acetat liegen. Dieser Effekt tritt schon bei der kleinsten Fütterungsmenge auf. Bei höheren Konzentrationen bleibt eine weitere Förderung der Synthese aus. Der Grund dafür dürfte in einem Mangel an ATP und reduziertem Pyridin-Co-Ferment liegen, die infolge Hemmung im Zitronensäurecyclus in vermindertem Umfange entstehen. Daß bei erhöhtem Fettspiegel in der Leber der Einbau von markiertem Acetat in die Fette verringert ist, läßt sich zum einen aus dem Einbau von Bruchstücken der zugeführten Malonsäure und zum anderen aus vermehrter Mobilisierung und damit verstärktem Einbau von Acetat aus anderen Quellen des Intermediärstoffwechsels erklären.

Der Abtransport der reichlich gebildeten Fette aus der Leber in die Depots dürfte in Form der Phospholipide erfolgen, wie aus der Förderung sowohl der Gewichts- als auch der Aktivitätskurve zu ersehen ist; denn nach allgemeiner Ansicht stellen die Phospholipide die Transportform der Fette dar.

II. Neutralfette und Phospholipide

Bestimmung von Aktivität und Gewicht.

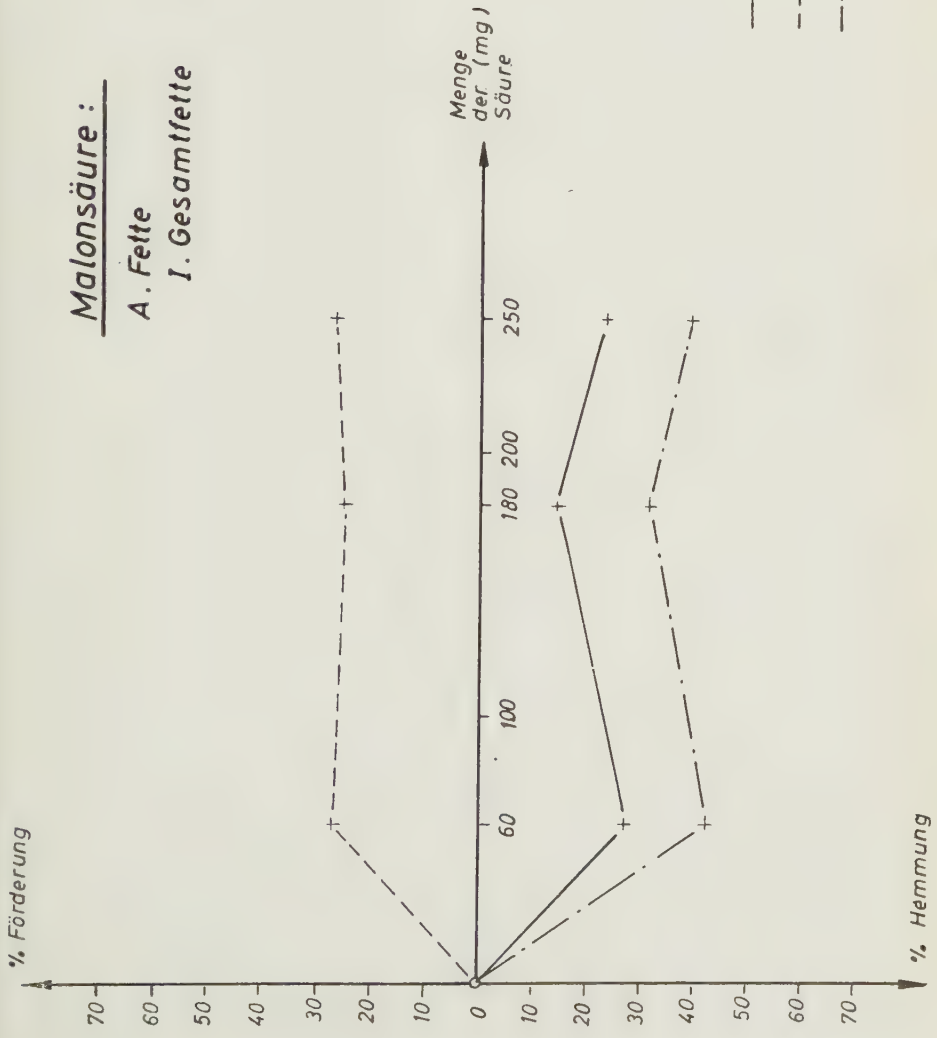
Vers. Nr.	Menge (mg) Malonsäure	A	Neutralfette (N)		A	Phospholipide (P)		N : P	
			%+-	G		%+-	G	A	G
82	3x 60	1,6 8	-56,8	88,5	2,6 7	-24,8	159,5	1:1,59	1:1,85
83	3x 60	2,7 3	-29,8	106	3,3 0	- 7,1	195	1:1,21	1:1,83
93	3x 60	2,4 3	-37,7	87,7	4,2 6	-20	185	1:1,76	1:2,11
Mittelwert		2,2 8	-41,3	94,2	3,4 1	- 4	179,7	1:1,49	1:1,91
84	3x180	1,7 9	-54	58,2	5,3 6	-51	147	1:2,99	1:2,53
85	3x180	2,3 3	-40	54,6	4,7 2	+33	153	1:2,03	1:2,79
99	3x180	1,8 5	-52,4	62	3,0 6	-13,7	164	1:1,66	1:2,65
Mittelwert		1,9 9	-48,8	58,2	4,3 8	+23,5	155	1:2,20	1:2,66
86	3x250	1,4 8	-62	64	4,3 1	+21,8	168	1:2,91	1:2,62
87	3x250	2,4 2	-39,3	80	4,6 2	+30,1	173	1:1,92	1:2,16
94	3x250	1,0 9	-72	63,5	3,5 6	+ 0,1	173,5	1:3,22	1:2,73
Mittelwert		1,6 6	-57,3	69,2	4,1 6	+17,5	171,5	1:2,51	1:2,48

Erläuterung: A: Aktivität, gemessen in Imp. $\times 10^4$ /min.
G: Gewicht (mg)
N: Neutralfette
P: Phospholipide
%+-: Förderung bzw. Hemmung der Fettsynthese

Malonsäure :

A. Fette

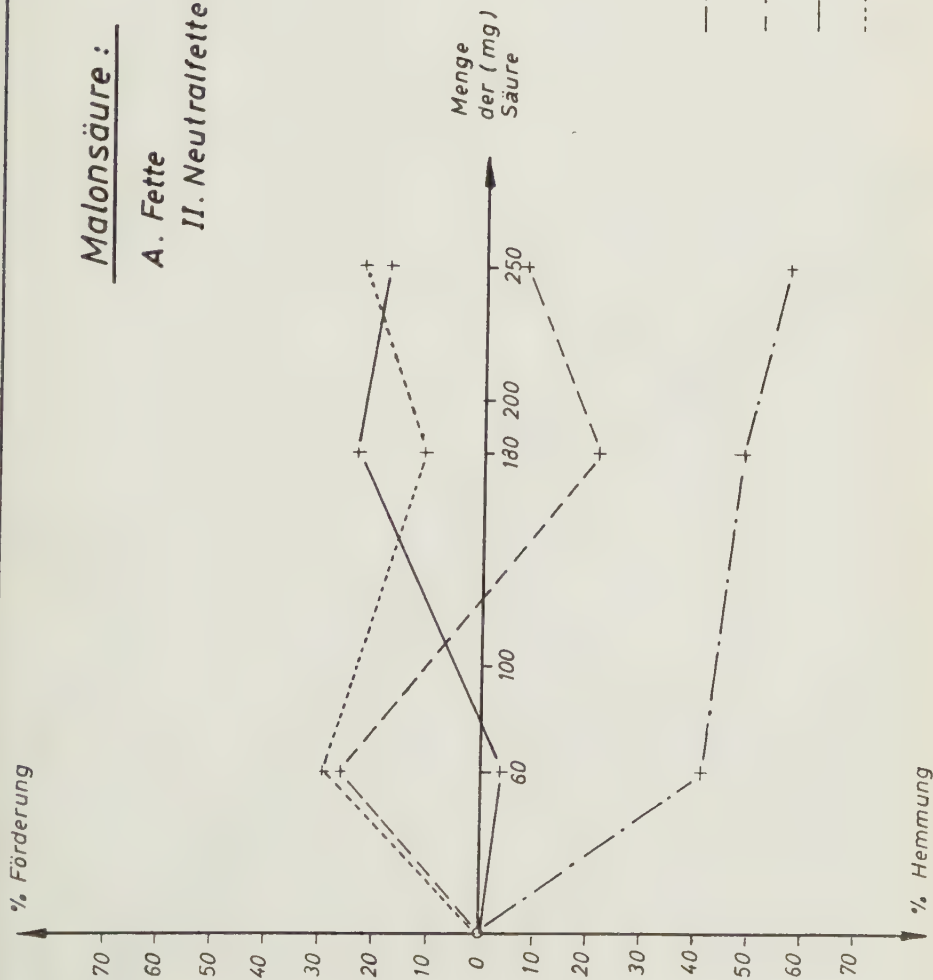
I. Gesamtfette



Malonsäure :

A. Fette

II. Neutralfette u. Phospholipoide

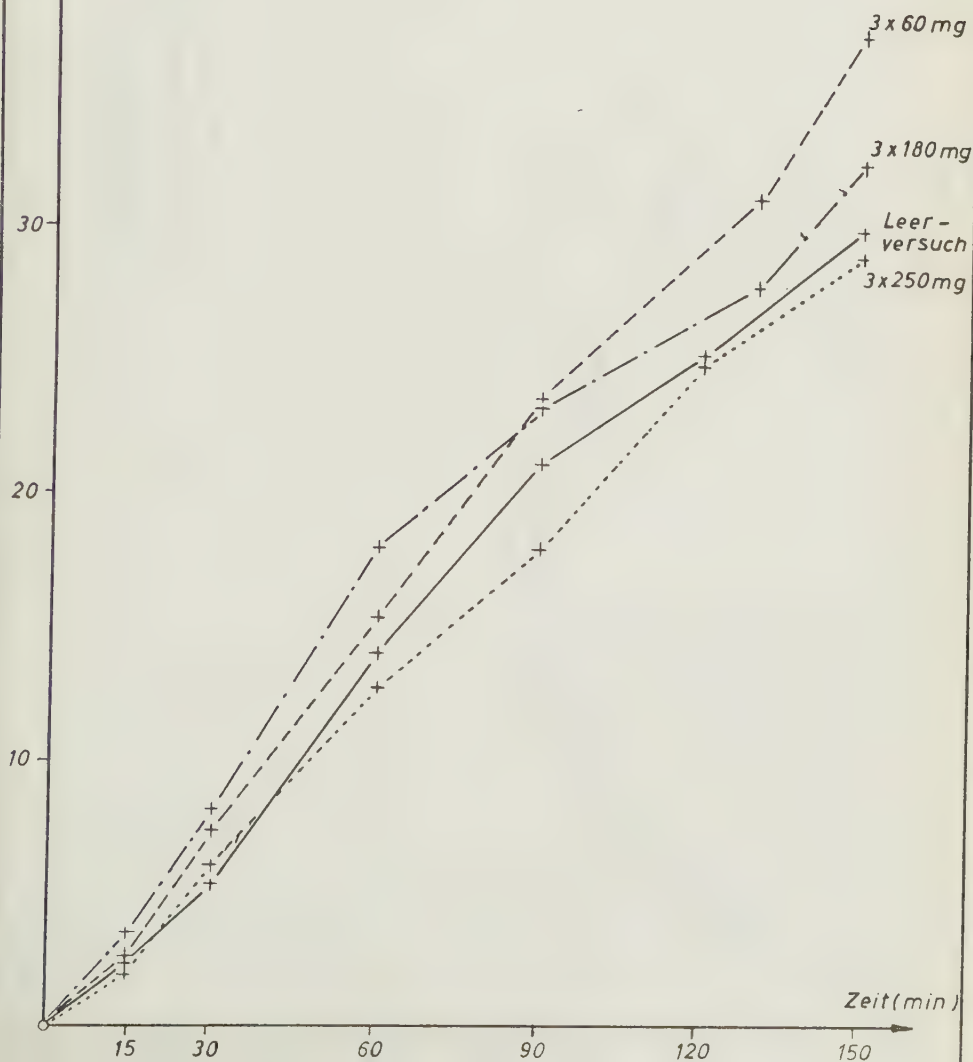


Aktivität
(Impulse / min $\times 10^4$)

Malonsäure :

B. CO₂- Ausscheidung

I. Aktivität



Aktivität
(Impulse/min $\times 10^4$)

Malonsäure :

B. CO_2 - Ausscheidung
II. Spezifische Aktivität



G l u t a r s ä u r e .

Glutarsäure ist im Gegensatz zu den höherkettigen Dicarbonsäuren in Wasser gut löslich, besitzt aber nur einen geringen Dissoziationsgrad. In größeren Mengen kommt sie nur im Rübensaft vor. Über ihre biochemische Funktion sind wir verhältnismäßig gut informiert. Beziehungen bestehen vor allem zum Eiweißstoffwechsel. Lysin wird über verschiedene Zwischenprodukte zu Glutarsäure abgebaut, der letzte Schritt besteht dabei in einer oxydativen Decarboxylierung der α -Keto-Adipinsäure. Ebenso ist die Glutarsäure das Endprodukt des Tryptophanabbaus.

Eingehende Untersuchungen über den Stoffwechsel der Glutarsäure, in Stellung 1 und 5 mit C^{14} markiert, wurden von Rothstein und Mitarbeitern (20,21) an Ratten durchgeführt, die Phlorrhizin erhalten hatten. Es fanden sich innerhalb von 24 Stunden 2 % des zugeführten C^{14} in der im Harn ausgeschiedenen Glucose, wobei das isotope-C nur in Positionen 3 und 4 nachgewiesen wurde. Die Hälfte des ausgeatmeten CO_2 war radioaktiv. Daraus geht hervor, daß die Glutarsäure im tierischen Organismus gut resorbiert und rasch verbrannt wird. Zum Teil findet die Glutarsäure auch Verwendung zur Synthese anderer Substanzen.

Auf Grund der angeführten Untersuchungen lassen sich folgende Abbauege der Glutarsäure im tierischen Organismus diskutieren :

- 1.) Oxydation zur α -Ketoglutarsäure über die entsprechende α -Hydroxysäure. In Form der Ketoglutarsäure kann sie einerseits im Zitronensäurecyclus durch oxydative Decarboxylierung zur Bernsteinsäure umgebaut werden, andererseits hat sie über die Glutaminsäure Verbindung zum Eiweißstoffwechsel.
- 2.) Oxydation zur β -Ketoglutarsäure: Durch β -Oxydation, wie wir sie vom Abbau der Fettsäuren kennen, entsteht eine Aceton-Dicarbonsäure, die nach Decarboxylierung zur Acetessigsäure wird. In dieser Form kann sie nach Aktivierung durch Co-Enzym-A direkt in den Fettstoffwechsel eingeschaltet werden. Bei Spaltung in Essigsäure

steht ihr der Weg in alle "Himmelsrichtungen" des Stoffwechsels offen.

- 3.) Decarboxylierung zu Buttersäure: Dadurch gewinnt die Glutarsäure eine weitere Beziehung zum Fettstoffwechsel; denn Verlängerung der Kette durch Anlagerung von Acetatbruchstücken führt zu den höheren Fettsäuren.

Auf Grund dieser Überlegungen wäre bei unserer Versuchsanordnung zu erwarten :

- 1.) Steigerung der Verbrennungsvorgänge
- 2.) Förderung der Fettsynthese

Eigene Ergebnisse :

Schon bei der kleinsten Fütterungsmenge ergibt sich ein deutlicher Anstieg der Gewichtskurve der Gesamtfette, die bei 180 mg mit nahezu 40 % Förderung ihr Maximum erreicht, um dann bei höheren Konzentrationen wieder abzuflachen. Die Kurve der spezifischen Aktivität verläuft im gegengesetzten Sinne : Sie zeigt bei 60 mg eine Hemmung von 38 % und verläuft bei höheren Konzentrationen nahezu spiegelbildlich zur Gewichtskurve. Der Kurvenverlauf bei der Auftrennung in Neutralfette und Phospholipide ist entsprechend. Auffallend dabei ist, daß die Gewichtskurve der Phospholipide durchwegs über der der Neutralfette verläuft, welche erst bei höheren Konzentrationen über die Nulllinie ansteigt. Ebenso liegt die Kurve der Aktivität der Neutralfette stets unter der der Phospholipide. So beträgt beispielsweise das Verhältnis der Neutralfette zu den Phospholipiden bei 250 mg Fütterungsmenge gewichtsmäßig 1 : 2,19 (im Leerversuch 1 : 1,87), aktivitätsmäßig 1 : 2,0 (im Leerversuch 1 : 0,92).

Ein ähnliches Bild bietet sich bei der Betrachtung der CO_2 -Ausscheidung: Bei der Gewichtskurve läßt sich mit steigenden Fütterungsmengen ein linearer Anstieg feststellen. Bemerkenswert ist, daß schon bei 60 mg deutlich mehr CO_2 als bei den Kontrolltieren abgeatmet wird. Bei dieser Kon-

zentration liegt auch die Kurve der Gesamtaktivität am höchsten. Dem entspricht bei der Kurve der spezifischen Aktivität ein verzögerter Anstieg mit Maximum bei 90 min. und ein verlangsamer zeitlicher Abfall. Die Gesamtaktivität bei höheren Fütterungsmengen liegt unter der von 60 mg, aber noch deutlich über dem Wert des Leerversuches. Bei diesen Konzentrationen ist auch bei der spezifischen Aktivität im Kurvenverlauf ein stark beschleunigter Anstieg, der sein Maximum schon nach 30 min. hat, und ein rascherer Abfall zu verzeichnen.

Stellt man die Resultate der CO_2 -Ausscheidung den Ergebnissen der Fettbestimmung gegenüber, ließen sich folgende Beziehungen denken :

Die Glutarsäure wird vom tierischen Organismus, wie oben bereits ausgeführt, gut verwertet, selbst bei Verabreichung großer Mengen, wie aus unseren Versuchen hervorgeht. Es stehen dabei folgende Wege im Stoffwechsel zur Diskussion :

Die Glutarsäure wird oxydiert und gelangt als α -Ketoglutarsäure in den Zitronensäurecyclus. Dort wird sie bis zur Oxalessigsäure abgebaut. Diese ist als Starter des Zitronensäurecyclus zugleich der wichtigste Regulator für die Schnelligkeit seines Ablaufs. Durch vermehrte Bildung von Oxalacetat kommt es somit zu einer gesteigerten Verbrennung von C_2 -Bruchstücken, also auch des markierten Acetats. Schon bei der kleinsten Konzentration, die verfüttert wurde, zeigte sich dies in einem deutlichen Anstieg der Menge und der Aktivität der CO_2 -Ausscheidung gegenüber den Kontrollversuchen.

Bei höheren Fütterungsmengen wird vermutlich auch der andere Abbauweg, der durch Decarboxylierung der Glutarsäure über Acetessigsäure zum Acetat führt, in vermehrtem Maße beschritten. Somit wird auch nicht markiertes Acetat in gesteigertem Umfang verbrannt. So ist es auch zu erklären, daß bei erhöhter CO_2 -Gewichtsausscheidung die Gesamtaktivität abnimmt. Diese Tatsache kommt auch bei der spezifischen Aktivität zum Ausdruck : Die Kurve mit 60 mg zeigt einen ziemlich gleichmäßigen Verlauf mit verzögertem Abfall, woraus man auf eine gesteigerte, aber zeitlich gleichmäßige Verbrennung des markierten Acetats

schließen kann. Dagegen wird bei höheren Fütterungsmengen schon in der ersten halben Stunde das meiste markierte Acetat verbrannt, während im weiteren Verlaufe aus dem Abbau der Glutarsäure stammendes, natürlich nicht radioaktives Acetat zur Verfügung steht: Die Kurve zeigt einen steilen Abfall.

Die bei diesen Verbrennungsvorgängen - vor allem in Form von ATP - freiwerdende Energie sowie das dabei vermehrt gebildete reduzierte Pyridin-CO-Ferment stehen einer gesteigerten Fettsynthese zur Verfügung. Die als Grundbausteine benötigten C_2 -Bruchstücke stammen sicher zu einem großen Teil aus dem Abbau der reichlich angebotenen Glutarsäure. Dieser Umstand erklärt auch den relativ erhöhten Fettspiegel in der Leber. Der Abtransport der vermehrt gebildeten Fette in die Peripherie erfolgt in Form der Phospholipoide, die also vermehrt in der Leber gebildet werden. Der Fettspiegel der Neutralfette in der Leber steigt erst bei höheren Konzentrationen, wohl deshalb, weil dann der Umesterung der Fettsäuren von den Neutralfetten in die Phospholipoide, wie sie in der Leber ständig vor sich geht, Grenzen gesetzt sind.

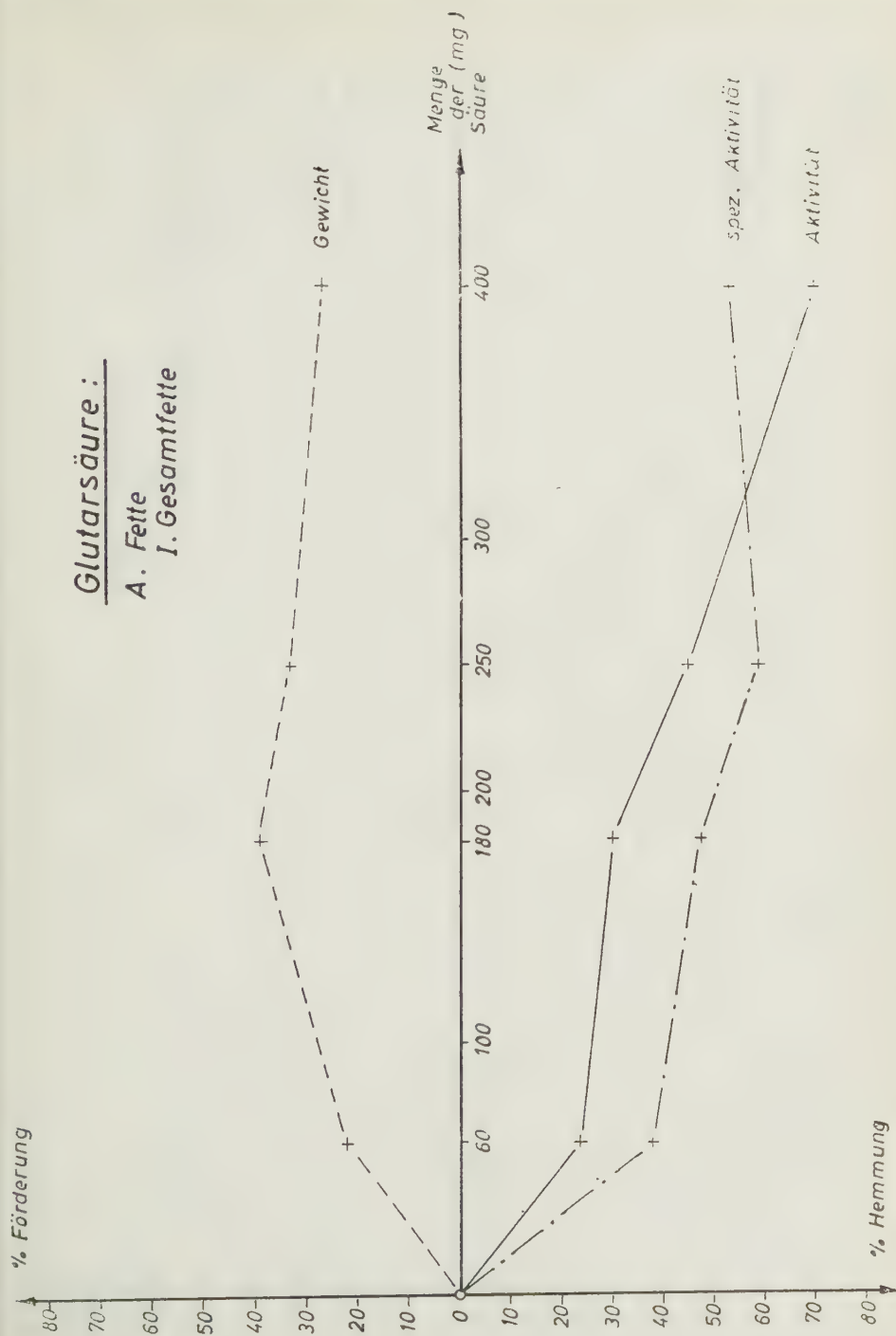
II. Neutralfette und Phospholipide

Bestimmung von Aktivität und Gewicht

Vers. Menge (mg) Nr. Glutarsäure	Neutralfette (N)		Phospholipide (P)		N : P	
	A	%+- G	A	%+- G	A	G
74 3x 60	2,2 5	-42	2,9 2	-17,8	1:1,30	1:1,93
76 3x 60	3,4 5	-11	4,5 0	+26,7	1:1,31	1:1,88
91 3x 60	1,9 2	-50,5	2,8 0	-21	1:1,46	1:2,61
Mittel- wert	2,5 4	-34,5	3,4 1	-4	1:1,34	1:2,11
75 3x180	2,1 5	-44,5	2,0 5	-42,2	1:0,95	1:2,28
77 3x180	2,7 9	-28	2,7 8	-22,1	1:1,0	1:1,69
Mittel- wert	2,4 7	-36,4	2,4 2	-32	1:0,98	1:1,93
78 3x250	1,3 4	-65,5	3,6 7	+3,2	1:2,74	1:2,53
79 3x250	1,4 8	-61,9	2,0 9	-41	1:1,42	1:1,80
92 3x250	1,1 5	-70,4	2,1 5	-39,4	1:1,87	1:2,34
Mittel- wert	1,3 2	-66	2,6 5	-25,7	1:2,0	1:2,19
80 3x400	2,7 9	-66,6	2,1 1	-41	1:2,67	1:2,12
81 3x400	0,6 1	-84,3	1,4 5	-59,2	1:2,38	1:2,14
Mittel- wert	0,7 0	-81	1,7 8	-50	1:2,54	1:2,14
Erläuterung:	A: Aktivität, gemessen in Imp/min. $\times 10^4$				%+-: Förderung bzw. Hemmung d. Fettsynthese	
	G: Gewicht, gemessen in mg				N: Neutralfette P: Phospholipide	

Glutarsäure:

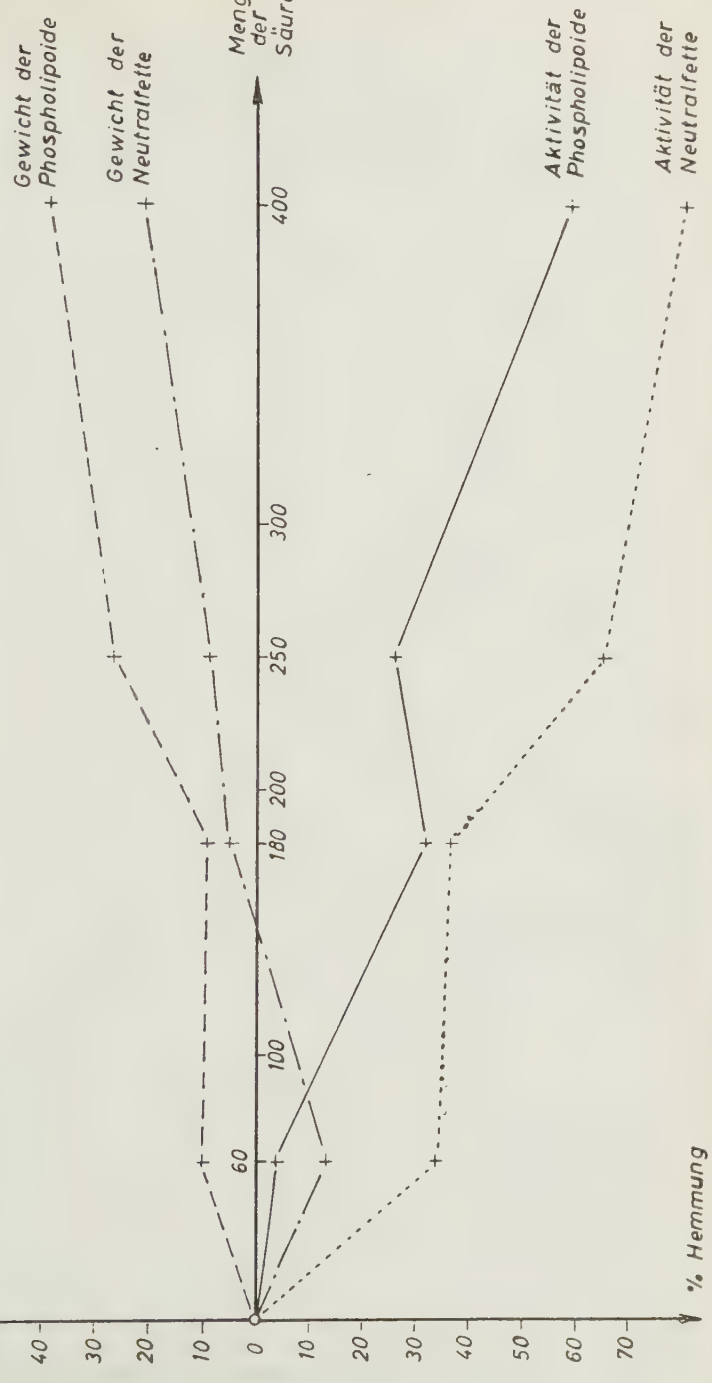
A. Fette
I. Gesamtfette



Glutarsäure:

A. Fette

II. Neutralfette u. Phospholipoide

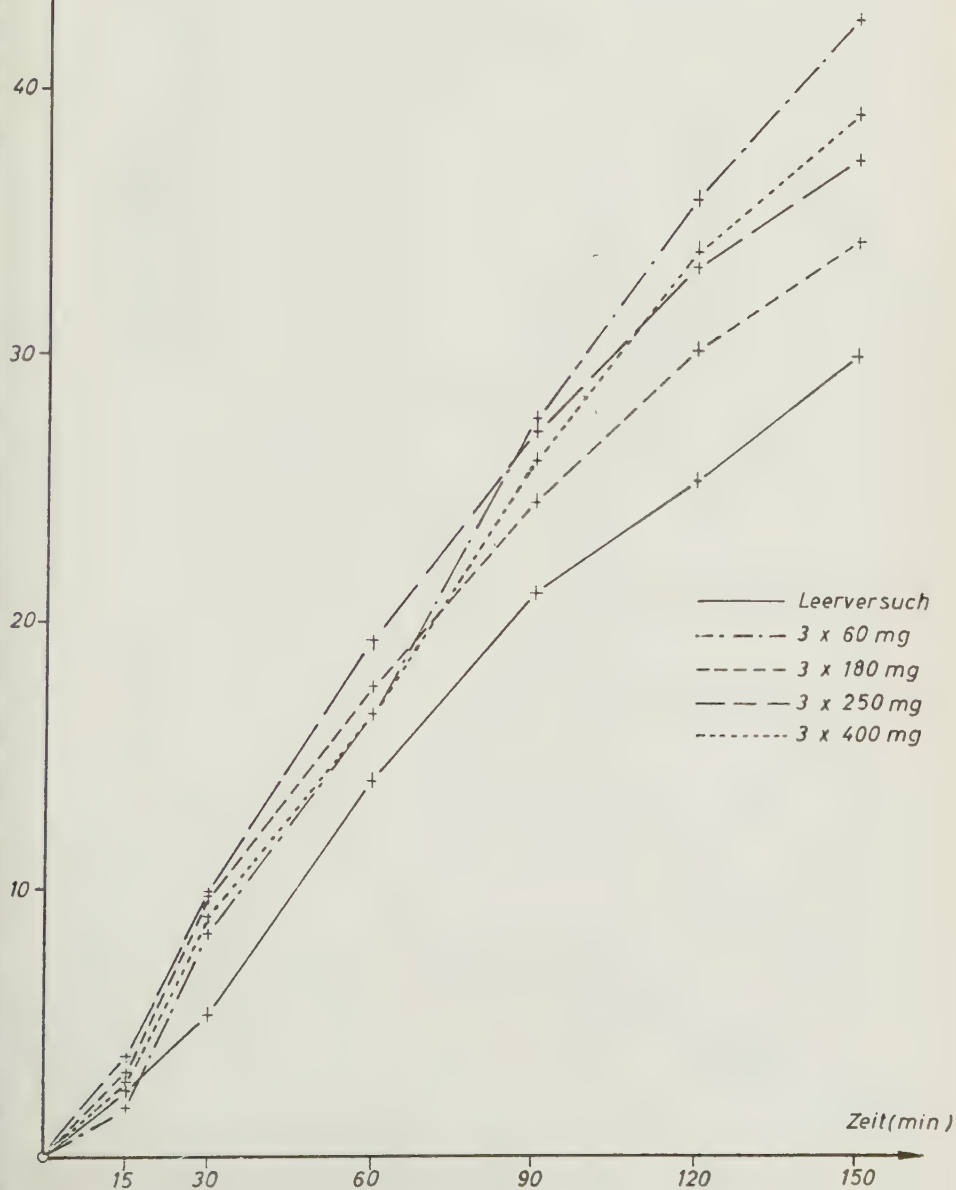


Aktivität
(Impulse/min $\times 10^4$)

Glutarsäure :

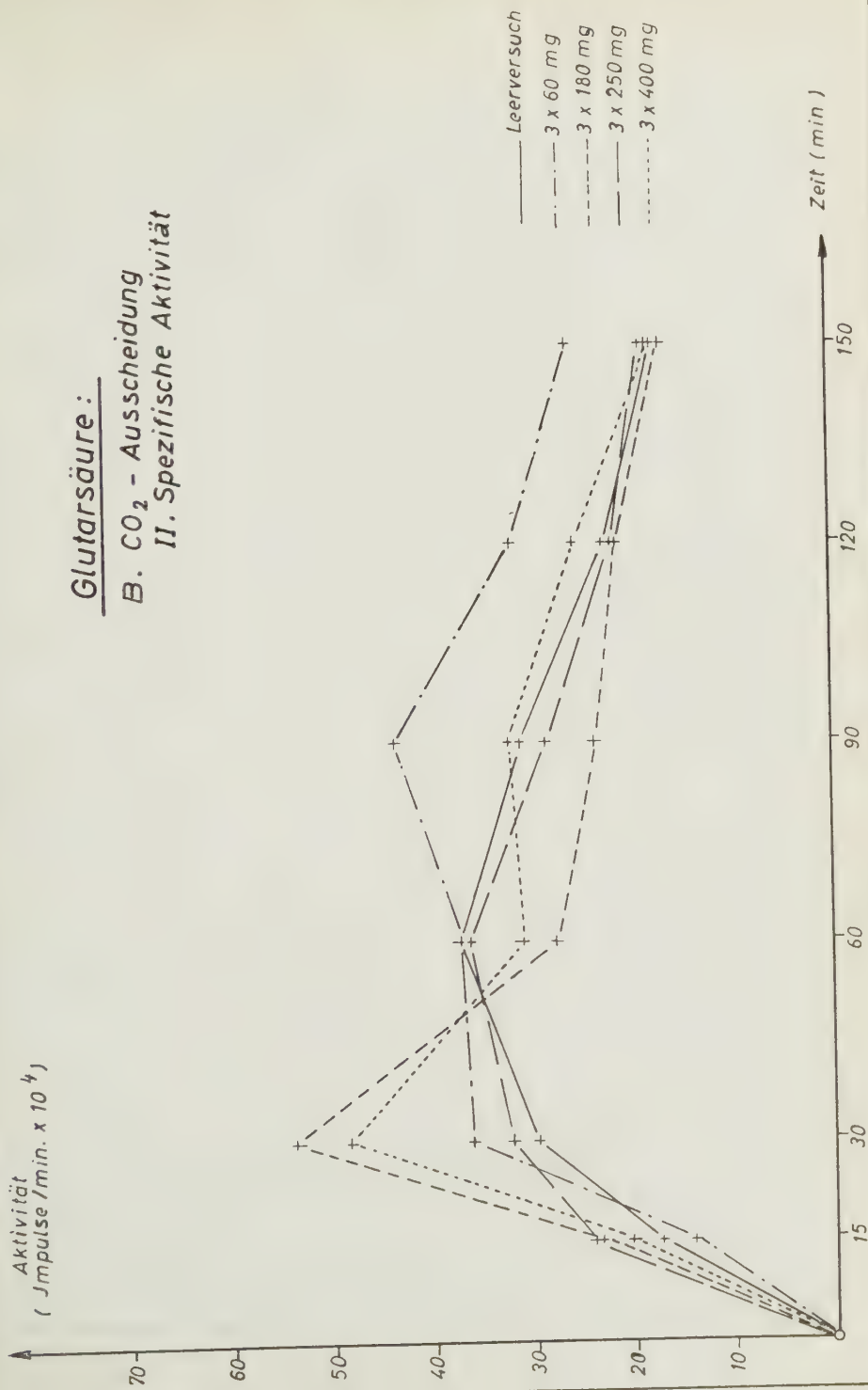
B. CO₂ - Ausscheidung

I. Aktivität (Imp./min)



Glutarsäure:

B. CO₂ - Ausscheidung II. Spezifische Aktivität



A z e l a i n s ä u r e

Die Azelainsäure ist in Wasser nur sehr gering löslich und dissoziiert nur wenig. Sie gehört mit 9 C-Atomen zu der Gruppe der mittelkettigen Fettsäuren; sie ist ein Bestandteil des Rizinusöles und entsteht durch Oxydation von Ölsäure. In der Nahrung spielt sie keine Rolle.

In ihrem biologischen Verhalten ähnelt sie der Caprinsäure, der ihr entsprechenden Monocarbonsäure, und ist wie diese ziemlich reaktionsträge. Sie geht keine Verbindung mit Co-Enzym A ein (22), was dieses Verhalten erklären könnte. Demnach wird sie vom Organismus, wenn sie in vermehrtem Maße angeboten wird, in vermehrtem Maße auch unverändert wieder ausgeschieden. So fanden Verkade und Mitarbeiter (23) bei Verfütterung von Azelainsäure an Hunde und bei Selbstversuchen etwa 45 % der jeweils verfütterten Mengen unverändert im Harn wieder. Ergänzende Untersuchungen von Flaschenträger und Smith (8, 24) ergaben, daß es gleichgültig ist, ob die Substanz peroral oder parenteral gegeben wird. Die Resorption der Azelainsäure ist also quantitativ gut. Die Azelainsäure gelangt dabei wahrscheinlich entsprechend ihrer homologen Monocarbonsäure über das Pfortadersystem in die Leber. Da sie, wie bekannt, von den Enzymen nur schwer angegriffen wird, scheidet der Organismus einen großen Teil über die Niere aus. Der Rest bleibt vielleicht in Form von Glyceriden zunächst in der Leber und im Gewebe liegen, um dann erst allmählich abgebaut zu werden. Ähnliches konnte Schönheimer (25) für die mittelkettigen Monocarbonsäuren mit Hilfe deuterium-haltiger Fettsäuren nachweisen. Der endgültige Abbau der Azelainsäure erfolgt durch β -Oxydation, die möglicherweise von beiden Carboxylenden her erfolgt. (27, 28).

In welcher Weise und in welchem Umfang kann die Azelainsäure im Intermediärstoffwechsel entstehen ? Ursprünglich nahm man an, daß die Azelainsäure beim Abbau von Ölsäure durch oxydative Spaltung an der Doppelbindung entstehen könnte. Diese Ansicht wurde von Bernhard und Gloor (26) widerlegt. Dagegen konnten dieselben Autoren nachweisen, daß der tierische Organismus in der Lage ist, 9, 10-Dioxystearinsäure

und 9,10-Diketostearinsäure zu Azelainsäure zu oxydieren. Ähnliche Untersuchungen wurden von Stevens und Chaikoff mit Stearol- und Behenolsäure, Fettsäuren mit einer Dreifachbindung (Δ 13, 14) durchgeführt. Sie zeigten, daß diese Säuren an den Dreifachbindungen gespalten werden, und als Spaltprodukt Azelainsäure entsteht (29). Geringe Mengen an Azelainsäure werden im tierischen Organismus durch ω -Oxydation aus Caprinsäure gebildet. Weiter wird Azelainsäure bei der β -Oxydation höherer Dicarbonsäuren als Zwischenprodukt frei, wie Verkade und Mitarbeiter bei Verfütterung von Undecandisäure an Hunde feststellen konnten. Hierbei fanden sich neben Pimelinsäure größere Mengen Azelainsäure im Harn. (30, 31).

Bernhard konnte diesen Weg des Abbaus bestätigen, indem er deuteriumhaltige Dicarbonsäuren mit 6 - 10 C-Atomen verfütterte und den D-Gehalt im Harn bestimmte. Der Gehalt der jeweiligen Dicarbonsäuren an Deuterium war dem verfütterten fast gleich, so daß anzunehmen ist, daß im Organismus nur geringe Mengen an weiteren Dicarbonsäuren anfallen, da der Deuteriumgehalt der Dicarbonsäuren im Harn sonst verdünnt wäre. (28).

Eigene Ergebnisse :

Zunächst werden die Gesamtfette betrachtet :

Bei Verfütterung von 60 mg Azelainsäure ist sowohl gewichts- als auch aktivitätsmäßig kein Einfluß auf den Fettstoffwechsel zu erkennen. Mit zunehmender Konzentration sinkt die Kurve der spezifischen Aktivität ab, bis zu einem Wert 77 % unter der Nulllinie bei 400 mg. Die Gewichtskurve hat ihren ersten Höhepunkt bei 180 mg, liegt bei 250 mg kaum über dem Nullniveau und zeigt bei 400 mg eine Förderung von 28 %. Bei der Auftrennung der Gesamtfette ergibt sich folgendes Bild :

Bei der kleinsten Fütterungsmenge zeigt die Aktivitätskurve der Neutralfette einen starken Abfall bis -41 %, verläuft aber bei steigenden Konzentrationen flacher, jedoch weiterhin fallend. Bei 400 mg erhielten wir eine Hemmung von -73 %. Die Aktivitätskurve der Phosphatide hingegen weist

bei 60 mg eine Förderung von 25 % auf, fällt jedoch bei höheren Konzentrationen ebenfalls unter das Nullniveau ab bis -35 % bei 400 mg. Betrachten wir die Gewichtskurve, so ist bei den Neutralfetten bei niederen Fütterungsmengen ein leichter Anstieg, ab 250 mg eine ziemlich abrupte Zunahme bis 103 % festzustellen. Bei den Phospholipoiden liegt das Maximum der Gewichtskurve bei 180 mg und zeigt sowohl bei den kleineren als auch bei den größeren Konzentrationen einen leichten Abfall.

Bei der CO_2 -Ausscheidung liegt die Kurve der Gesamtaktivität bei 60 mg nur wenig über der des Leerversuches. Sie steigt proportional der Fütterungsmenge und erreicht ihr Maximum bei 400 mg. Der zeitliche Ablauf der auf die Gewichtseinheit bezogenen C^{14} -Ausscheidung liegt in der ersten halben Stunde stets über dem Kontrollwert. Mit steigender Konzentration verläuft die Kurve dabei jeweils steiler, hat ihr Maximum bei 60 min. und fällt dann in den darauf folgenden 90 min. stufenförmig ab. Die Werte der gewichtsmäßigen Bestimmung des als BaCO_3 -niedergeschlagenen CO_2 liegen stets niedriger als im Leerversuch. Bei der gemeinsamen Betrachtung der Ergebnisse bei der Fett- und CO_2 -Bestimmung wäre folgende Deutung denkbar :

Die Azelainsäure hat eine hemmende Wirkung auf die Verbrennungsvorgänge im tierischen Organismus. Dies geht aus der verminderten CO_2 -Ausscheidung bei sämtlichen Fütterungsversuchen hervor. Diese hemmende Wirkung der Azelainsäure hat ihren Angriffspunkt entweder unmittelbar im Zitronensäurecyclus, oder mittelbar in der Bereitstellung von Acetatbruchstücken, z. B. bei der Glycolyse. Die Annahme, daß die Azelainsäure eine mangelnde Mobilisierung von Acetat bewirkt, ließe sich auch gut mit den Ergebnissen bei der Gesamt- C^{14}O_2 -Ausscheidung, die proportional der Fütterungsmenge zunimmt, in Einklang bringen, ein Zeichen, daß vermehrt das zugeführte markierte Acetat verbrannt wird.

Diese Veränderungen in den Verbrennungsvorgängen des Organismus haben allenthalben Auswirkungen auf den Fettstoffwechsel; denn bei der Endoxydation werden Substanzen frei, die für die Synthese der Fette

unerlässlich sind; das gilt in erster Linie für das ATP und für die reduzierten Pyridin-Co-Fermente. Bei Mangel an diesen Stoffen ist also mit einer verringerten Fettsynthese zu rechnen. Bei unseren Versuchen ist der Einbau von C^{14} -Acetat in die Fette durchwegs vermindert. Auffallend dagegen ist, daß die Gewichtskurve der Gesamtfette mit Ausnahme der kleinsten Fütterungsmenge über dem Kontrollwert liegt. Dieser Befund ließe sich vielleicht so deuten, daß Azelainsäure als Ganzes in die Fette in Esterform eingebaut wird, und da sie ungenügend verbrannt wird, eine vorübergehende Erhöhung des Fettspiegels in der Leber bewirkt. Die Veresterung der Azelainsäure müßte in erster Linie mit den Glyceriden der Neutralfette erfolgen, wie aus dem steilen Anstieg der Gewichtskurve bei höheren Konzentrationen ersichtlich ist. Die Veränderung der Aktivitäts- und Gewichtskurven der Phospholipide ist nur gering und läßt keine eindeutigen Schlüsse zu.

II. Neutralfette und Phospholipide.

Vers. Menge (mg)		Neutralfette (N)		Phospholipide (P)		N : P					
Nr.	Azelainsäure	A	%+-	A	%+-	G	A				
46	3x 60	1,3 7	-65	67,7	- 9,4	5,1 2	+44	146	+ 5	1:3,73	1:2,15
52	3x 60	4,0 0	+ 3	98,8	+32	4,2 3	+20	97,3	-29,7	1:1,06	1:0,99
88	3x 60	1,5 4	-40	69	- 7,8	4,0 0	+13	164	+18	1:2,6	1:2,38
Mittelwert		2,3 0	-41	78,5	+ 5	4,4 5	+25	135,7	- 3	1:1,93	1:1,73
47	3x180	1,3 7	-64,7	93	+24,2	3,1 2	-12	177	+27	1:2,28	1:1,90
53	3x180	1,7 8	-54,2	59,3	-20,7	2,3 8	-33	180	+29,5	1:1,34	1:3,03
Mittelwert		1,5 8	-59,4	76,2	+ 2	2,7 8	-21,7	179	+28	1:1,76	1:2,34
59	3x250	1,0 3	-73,4	69	- 7,8	2,8 4	-20	152	+ 9,5	1:3,04	1:2,2
60	3x250	1,1 3	-71,2	80,7	+ 8	2,7 9	-21,5	150	+ 8	1:2,47	1:1,86
Mittelwert		1,0 8	-72,2	75,1	+ 0,5	2,8 2	-20,6	151	+ 8,7	1:2,62	1:2,01
51	3x400	1,1 7	-69,7	147	+96	2,1 4	-39,8	150	+ 8	1:1,83	1:1,02
55	3x400	0,8 9	-77	156	+108	2,4 4	-31,3	95	-32,7	1:2,74	1:0,61
Mittelwert		1,0 3	-73,4	152	+103	2,2 9	-35,4	126	- 9,8	1:2,23	1:0,83

Erläuterung: A: Aktivität, gemessen in Imp/min. x 10⁴

G: Gewicht, gemessen in mg

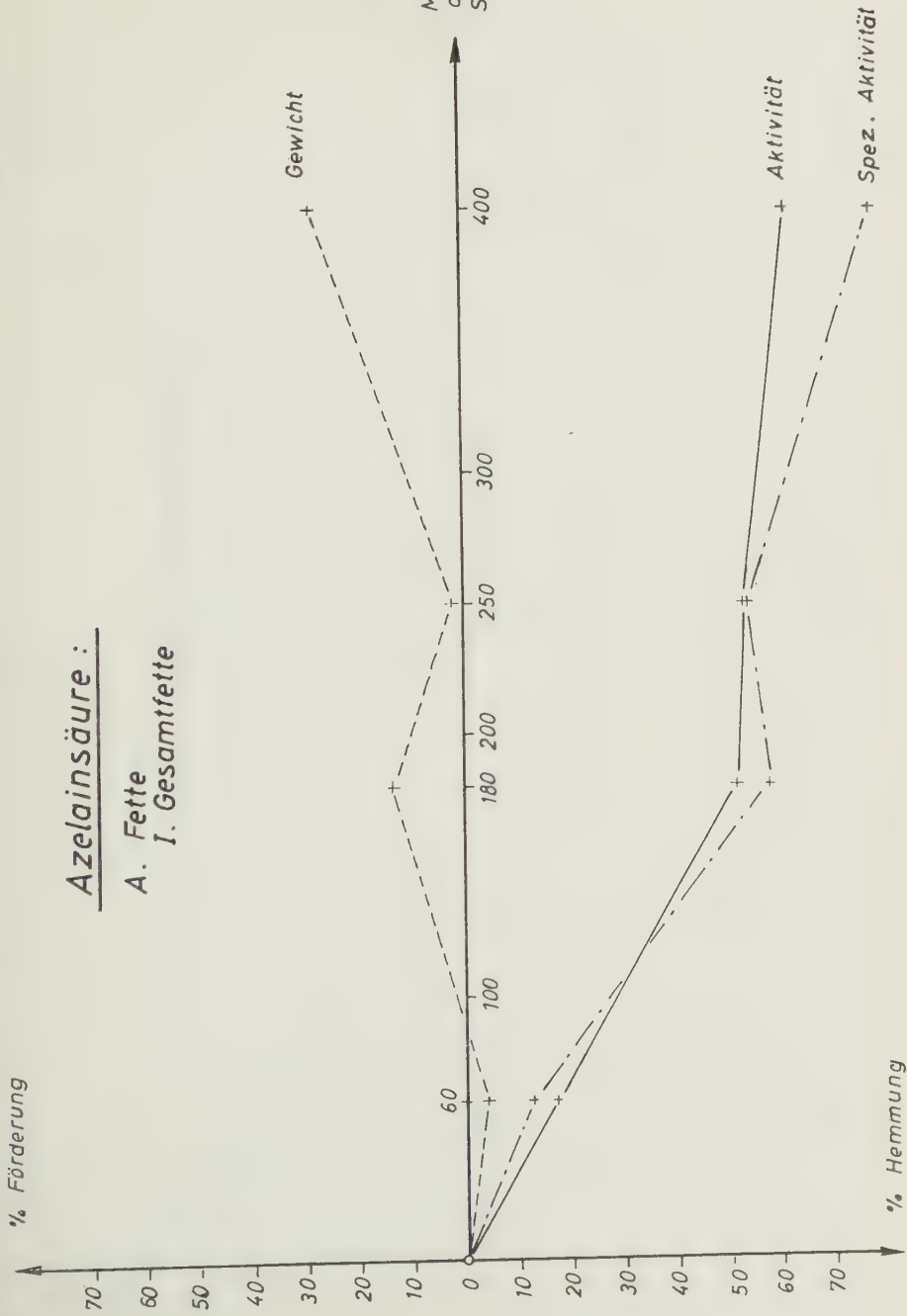
N: Neutralfette

P: Phospholipide

%+-: Förderung bzw. Hemmung der Fettsynthese

Azelainsäure :

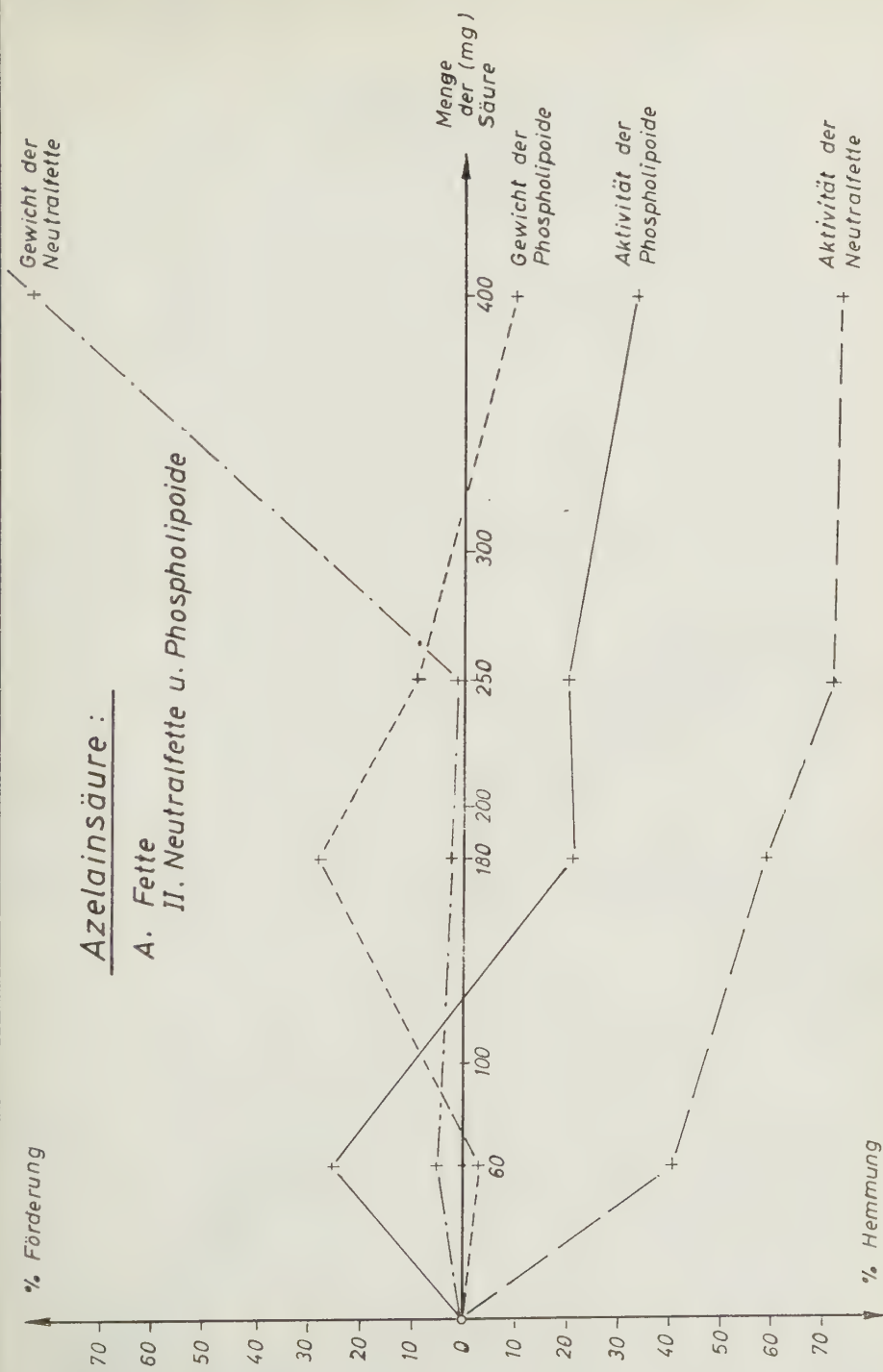
A. Fette
I. Gesamtfette



Azelainsäure :

A. Fette

II. Neutralfette u. Phospholipoide

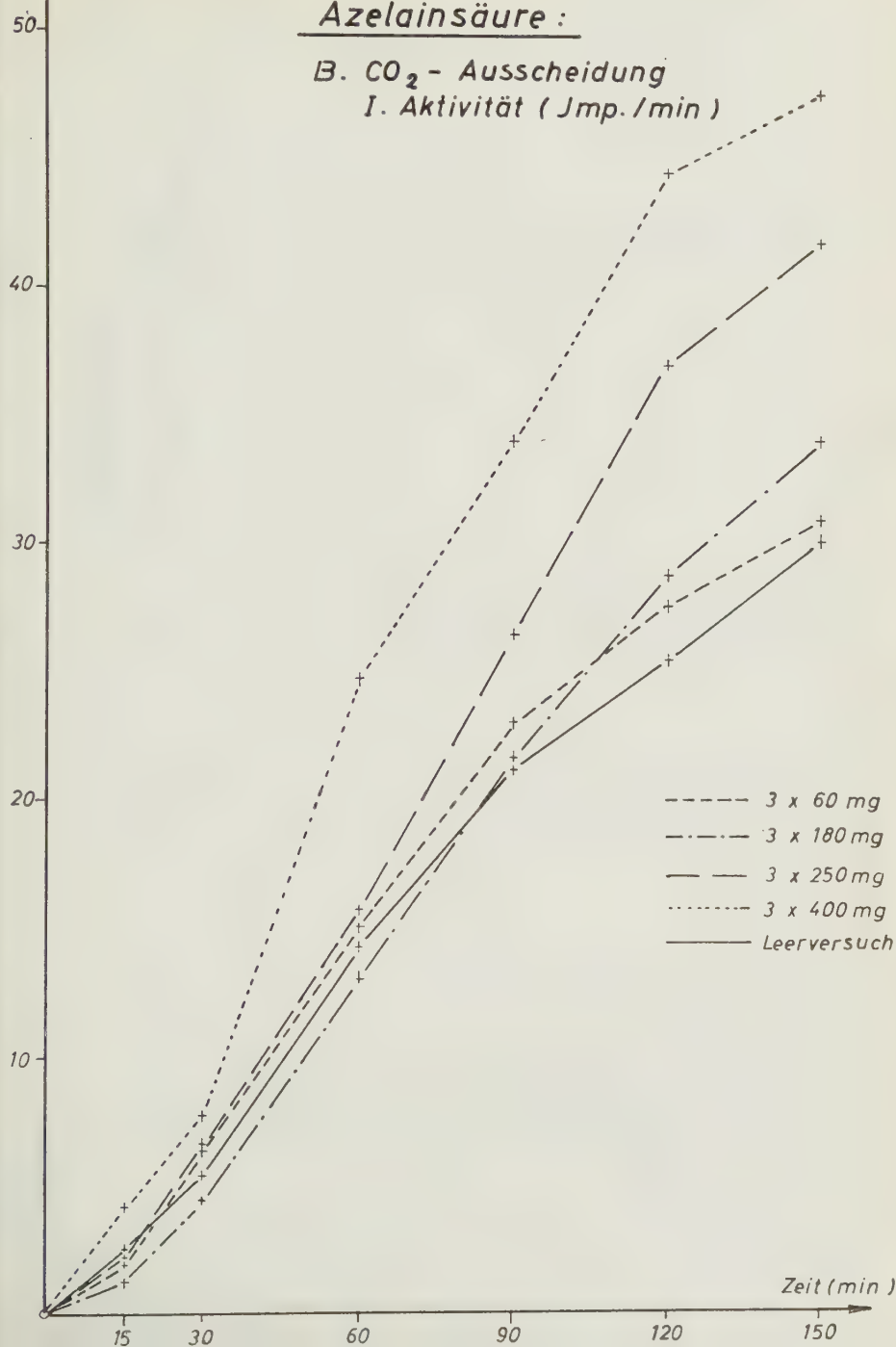


Aktivität
(Impulse/min $\times 10^4$)

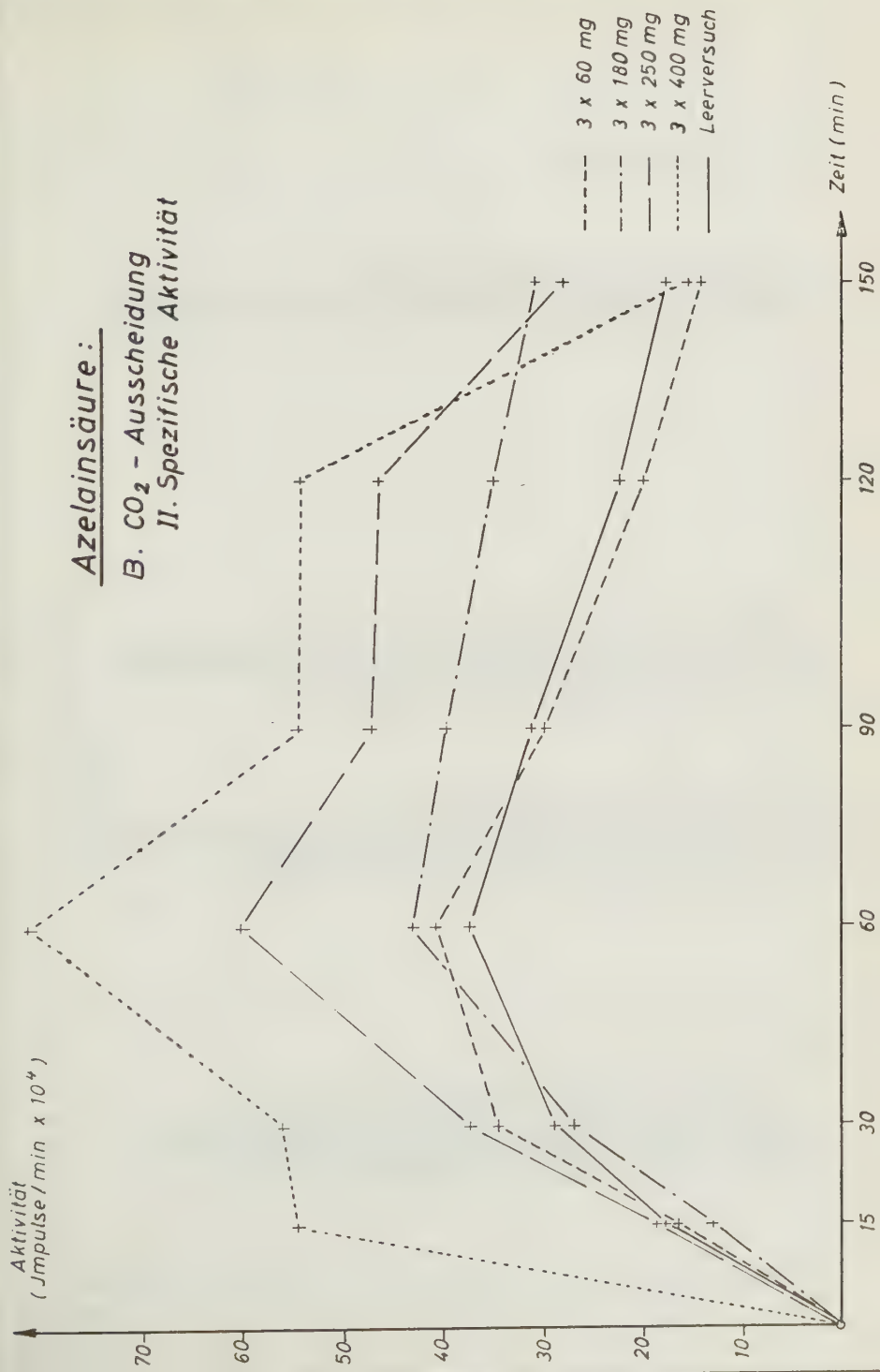
Azelainsäure :

B. CO₂ - Ausscheidung

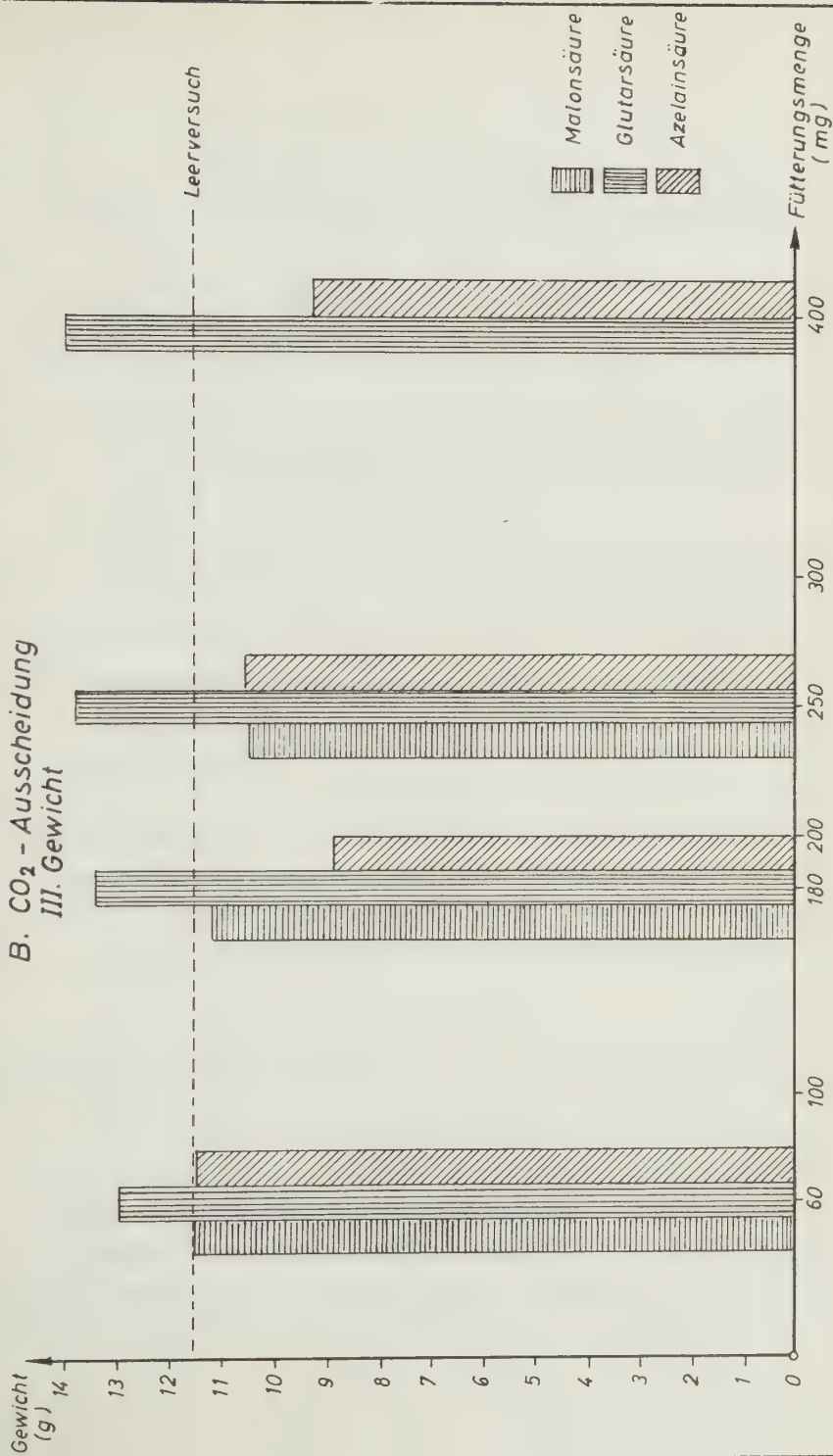
I. Aktivität (Imp./min)



Azelainsäure :
B. CO₂ - Ausscheidung
II. Spezifische Aktivität



B. CO_2 - Ausscheidung
III. Gewicht



D i s k u s s i o n

Um Einblick in die Stoffwechselwirkung der verfütterten Säuren zu gewinnen, wurden in der Versuchsanordnung zwei Methoden angewendet:

- 1.) Registrierung des Einbaus des markierten Acetats, das der Taube vor Versuchsbeginn instilliert wurde, in die einzelnen Fettfraktionen, beziehungsweise seine Ausscheidung in der Ausatemungsluft.
- 2.) Durch Feststellung des Gewichts wurde der Fettspiegel in der Leber bestimmt, beziehungsweise die absolute Menge des abgeatmeten CO_2 , das über das BaCO_3 gewonnen wurde.

Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen lassen sich also nur indirekte Schlüsse auf die Stoffwechselwirkung der verfütterten Säuren ziehen. So kann beispielsweise bei verminderter Aktivität in irgendeiner Fettfraktion die Ursache darin zu suchen sein, daß entweder bei Hemmung der Synthese weniger markiertes Acetat eingebaut wird oder daß bei Steigerung der Synthese verhältnismäßig weniger markiertes Acetat in den Fetten erscheint, weil die zugeführte Säure als ganzes (z. B. Korksäure in das Glycerid) in die Synthese einbezogen wird oder im Intermediärstoffwechsel vermehrt entstehende Acetatbruchstücke in größerem Umfang zum Aufbau herangezogen werden. Zur Unterscheidung darüber, welcher Weg beschritten wird, kann die Gewichtsbestimmung dienen.

Allerdings muß berücksichtigt werden, daß der Fettgehalt der Leber kein konstanter Faktor ist, sondern ein dynamischer Vorgang, der die Summe zweier entgegengesetzter Abläufe ist: der Zufuhr und Synthese von Fetten einerseits, ihrem Abtransport und Abbau andererseits. Weiter ist zu beachten, daß in der Leber ein ständiger Umbau der einzelnen Fettfraktionen untereinander vor sich geht. Die Phospholipoide, die als Transportform der Fette gelten, werden hauptsächlich in der Leber gebildet (13). Sie entstehen entweder durch völlige Neusynthese oder

durch Umesterung der Fettsäuren aus den Triglyceriden. Bergström und Mitarbeiter (3) fanden bei Injektionen mit markiertem Palmitat einen langsamen Einbau der Fettsäure in die Leberphosphatide mit Maximum nach einer Stunde. Nach 40 Minuten war die Aktivität der Fettsäuren auf Neutralfette und Phospholipoide gleich verteilt.

Für die Ergebnisse der CO_2 -Bestimmung gilt annähernd das gleiche. Allerdings ist die Entstehung des CO_2 im Organismus ein sehr komplexer Vorgang, sodaß detailliertere Aussagen nicht gemacht werden können. Auf der anderen Seite gewinnen wir hier einen Einblick in den zeitlichen Ablauf der Verbrennungsvorgänge, während wir bei der Fettbestimmung nur die momentane Stoffwechsellage zum Zeitpunkt der Schlachtung festhalten.

Z u s a m m e n f a s s u n g .

In dieser Arbeit wurde in in-vivo-Versuchen mit Tauben untersucht, auf welche Weise die Dicarbonsäuren - Malonsäure, Glutarsäure und Azelainsäure - auf den Intermediärstoffwechsel einwirken, d. h. ob sie wirksam in die Verbrennungsvorgänge als auch in den Mechanismus der Fettsynthese in der Leber eingreifen.

Die Wirkung der Malon-, Glutar- und Azelainsäure wurde in verschiedenen Konzentrationen über 1 1/2 Tage geprüft: Malonsäure mit 3 x 60 mg, 3 x 180 mg und 3 x 250 mg; Glutarsäure mit 3 x 60 mg, 3 x 180 mg, 3 x 250 mg und 3 x 400 mg; ebenso Azelainsäure in den 4 angegebenen Konzentrationen.

Als Vergleichstiere dienten Tauben, die über 8 Tage mit Weizen gefüttert worden waren. Die Vergleichswerte sind in der Arbeit unter Leerversuch angeführt.

Um die Stoffwechselvorgänge im Rahmen der hier angewandten Methodik verfolgen zu können, wurde den Tauben kurz vor Versuchsbeginn 1 ml C^{14} -Acetat instilliert, der Einbau der Fette in die Leber verfolgt und diese gewichtsmässig erfaßt. Gleichzeitig wurde auch das ausgeatmete $C^{14}O_2$ über 150 min. in verschiedenen Zeitabschnitten aufgefangen und das Gesamt- CO_2 gewichtsmäßig bestimmt.

Aus den im Rahmen dieser Arbeit erhaltenen Ergebnissen läßt sich folgender Schluß ziehen:

- 1.) Die Malonsäure hat eine hemmende Wirkung auf die Verbrennungsvorgänge im tierischen Organismus. Gleichzeitig ist eine Förderung der Fettsynthese in der Leber zu beobachten.
- 2.) Die Glutarsäure, die als α -Ketoglutarsäure in den Zitronensäurecyclus eingeht, hat eine durchwegs fördernde Wirkung auf den Verbrennungsmechanismus des Stoffwechsels. Das bedeutet Gewinnung von Energie in Form von ATP, die der gesteigerten Fettsynthese

in der Leber zur Verfügung steht.

- 3.) Die Azelainsäure erweist sich als stark hemmender Faktor in den Verbrennungsvorgängen. Es wird weniger ATP und reduziertes Pyridin-Co-Ferment freigesetzt, so daß der Fettstoffwechsel in der Leber ebenso herabgesetzt ist.

Die Fragen, die sich aus den erhaltenen Ergebnissen der Versuche ergaben, wurden anschließend erörtert und in einer kurzen Diskussion zusammengefaßt, die verschiedenen Angriffspunkte der Dicarbonsäuren im Stoffwechsel in Erwägung gezogen und die gewonnenen Überlegungen mit den Ergebnissen anderer Autoren verglichen.

L i t e r a t u r

- 1.) B. Bloom, I.L. Chaikoff, W.O. Reinhardt, E. Entenmann,
W. Dauben, J. Biol. Chem. 184, 87 (1950)
- 2.) Tan Nabatuschi, Arch.Jap.Chir. 3, 179 u.f. (1959)
- 3.) B. Bergström, P. Jordan, E. Thommen,
Acta Soc. Med. upsalien. 64, 185 (1959)
- 4.) Th. Stern, S. Ochoa, J.Biol.Chem. 191, 1 61 (1951)
- 5.) K. Bernhard, Helv.chim.acta 24, 141 2 (1941)
- 6.) F. Lynen, J. cell.comp.physio 1. 54, Suppl. 133 (1959)
- 7.) K. Lang und A.R. Bartsch, Biochem.Zeitschr. 323, 462 (1953)
- 8.) B.Flaschenträger u.a., Zschr.physiol.Chem., 238, 221 (1936)
- 9.) Bernhard u.a., Zschr.physiol.Chem., 245, 103 (1937)
- 10.) P.F. Verkade u.a., Zschr.physiol.Chem., 237, 186 (1935)
- 11.) M. Calvin, D. Heidelberger, B.M. Tolbert, P.E. Yankwich,
Isotopic Carbon, New York: Y. Wiley (1949)
- 12.) C. Entenmann, S.R. Lerner, I.L. Chaikoff, W.G. Dauben.
Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. Vol. 70, 364 (1949)
- 13.) B. Bergstein, Acta physiol. Scand. 25, 322 (1952)
- 14.) K. Thomas und H. Kalbe, Zschr.physiol.Chem., 293, 239 (1953)
- 15.) A. Tietz und G. Popjak, Biochem. J. 60, 155 (1955)
- 16.) E. Klenk und W. Bongard, Zschr.physiol.Chem., 292, 51 (1953)
- 17.) S. Abraham, K.J. Matthes und J.L. Chaikoff,
J. Biol. Chem. 235, 2551 (1960)
- 18.) S. Forsmann, Acta Physiol. Scand. 2, Suppl. 5, 101 (1941)
- 19.) N. Stolen und J.A. Litson, Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
74, 451 (1950)

- 20.) M.R. Rothstein, Fed. Proc. 11, 278 (1952)
- 21.) M.R. Rothstein, L.Z. Miller, J. Biol. Chem., 199, 199 (1952)
- 22.) A. Kornberg and W. Pricer, J. Biol. Chem., 204, 329 (1953)
- 23.) P.E. Verkade, u. van der Lee und H. van Alpen,
Zschr. physiol. Chem., 250, 47 (1937)
- 24.) G. Smith, J. Biol. Chem., 103, 531 (1933)
- 25.) L. Schönheimer, J. Biol. Chem., 111, 175 (1935)
- 26.) K. Bernhard und F. Gloor, Helv.chem. 36, 296 (1953)
- 27.) P.E. Verkade u. J. van der Lee,
Zschr. physiol. Chem., 247, 111 (1937)
- 28.) K. Bernhard und Lincke, Fortschr. Chem.org.Naturstoffe,
4, 188 (1945)
- 29.) J. Stevens and I.L. Chaikoff, J.Biol. Chem., 193, 465 (1951)
- 30.) P.E. Verkade, Zschr. Physiol. Chem., 234, 21 (1935)
- 31.) B. Flaschenträger u.a., Helv.chem.acta 18, 962 (1935)
- 32.) B. Flaschenträger u. F. Lehnartz, Physiol.Chemie, Berlin,
Göttingen und Heidelberg 1951 - 1956
- 33.) L.W. Bruce und F.B. Shorland, Nature 167, 236 (1951)
- 34.) E. Klenk, Zschr.Physiol.Chem., 302, 268 (1955)
- 35.) Mündliche Mitteilungen von cand. med. G. Göde.

L e b e n s l a u f

Als Tochter des Landwirtes Karl Eichhorn und seiner Ehefrau Erna wurde ich am 6. 3. 1937 in Jena (Thüringen) geboren.

Von 1943 bis 1948 Besuch der Grundschule in Liebschwitz bei Gera, Tröbsdorf an der Unstrut und Pfändhausen bei Schweinfurt. Anschließend ging ich 9 Jahre auf das städtische Mädchen-Real-Gymnasium in Schweinfurt.

Nach bestandenem Abitur im Jahre 1957 begann ich an der Universität in Erlangen Medizin zu studieren, legte im Jahr 1960 das Physikum ab und ging anschließend an die Universität in München.

Nach 6 Semester klinischen Studiums schloß ich im Sommer 1963 das Medizinstudium mit dem Staatsexamen ab.

Meine erste Stelle als Medizinalassistentin trat ich im Oktober 1963 in Coburg im Landkrankenhaus an.

Coburg, den 15. 2. 1964

